

الوراثة الطبية

Medical Genetics

تأليف
نخبة من الأساتذة
في كليات الطب



علم الوراثة
Medical Genetics

علم الوراثة Medical Genetics

لجنة التأليف

الدكتور: مروان الحلبي
الدكتور: مجيد الجمالي
الدكتور: المعتصم بالله زيتون
الدكتور: بسام الكسبي
الدكتورة: روميا حسن
الدكتور: عامر دباغ

التدقيق العلمي

الدكتور: عصام قاسم
الدكتورة: شادان حداد

التدقيق اللغوي

الدكتور: محمد قاسم

الفهرس

7	مدخل إلى علم الوراثة الطبي	مقدمة
19	الوراثة المنديلية	الفصل الأول
47	الوراثة اللامندلية	الفصل الثاني
61	المادة الوراثية والصبغيات	الفصل الثالث
79	تضاعف (تنسخ) الدنا	الفصل الرابع
95	الانتساخ	الفصل الخامس
123	الترجمة واصطناع البروتينات	الفصل السادس
149	ضبط وتنظيم التعبير الجيني	الفصل السابع
189	تقانات الهندسة الوراثية	الفصل الثامن
231	المجين البشري	الفصل التاسع
251	التشوهات (الزيوغ) الصبغية	الفصل العاشر
267	الاستنصاح الوراثي	الفصل الحادي عشر
295	الوراثيات المناعية	الفصل الثاني عشر
309	علم الوراثة الدوائي	الفصل الثالث عشر
325	علم الوراثة السرطانية	الفصل الرابع عشر
353	الوراثة السكانية البشرية	الفصل الخامس عشر
367	وراثيات الأمراض الشائعة	الفصل السادس عشر
405	المراجع العلمية	المراجع

مدخل إلى علم الوراثة الطبي

Introduction To Medical Genetics

المحتويات Contents

- | | |
|--|---|
| A. فهم الأمراض البشرية | G. التطبيقات السريرية لعلم الوراثة الطبية |
| B. الأمراض الجينية البشرية | H. التقييم والاستئصال الوراثي |
| C. الوراثة البشرية ما بين عامي 1900 و 1957 | I. التشخيص قبل الولادة |
| D. تحسين النسل وسوء فهم الوراثة | J. العلاج والوقاية من الأمراض الوراثية |
| E. دراسة الجينات على مستوى جزيئي | K. الخلاصة |
| F. مصدر للمعلومات حول الاعتلالات الوراثية لدى الإنسان على الشبكة | |

يقصد بتعبير الوراثة الطبية العلم الذي يدرس التنوعات الحيوية عند الأفراد التي تتعلق بالصحة والمرض، وانتقال الخلل من الآباء إلى الأبناء. وبالرغم من أن معرفة اختلاف البشر بعضهم عن بعض موهلة في القدم، وكذلك معرفة التشابه الذي يحدث بين الآباء وذريتهم، بجانب بعض الأمراض التي تشاهد بكثرة في التسلسل العائلي. لم يكشف النقاب عن الأساس العلمي لكل هذه الملاحظات إلا منذ قرن ونيف فقط. بل إن الاستخدامات السريرية لتلك المعارف لم تستغل إلا منذ وقت لا يتجاوز ثلاثة عقود مضت فقط.

A. فهم الأمراض البشرية (Understanding Human Diseases)

يمكن للإنسان وحده من بين كل الكائنات الحية التعلم والكتابة والقراءة والفهم. لقد مكنتنا قدرتنا على الملاحظة والتفكير والتحليل والتذكر ونقل المعلومات التي اكتسبناها من فرد لآخر ومن جيل للذي يليه من البقاء ومن النجاح والتقدم منذ الأزل حتى الآن.

يعد المرض والموت التحديين الكبيرين اللذين يواجهان الإنسان في صراعه من أجل البقاء، لذا سعى الإنسان وأوجد طرائق عديدة للشفاء من الأمراض وتخفيف المعاناة وإطالة أمد الحياة. لم تكن هذه الطرائق دائماً سهلة المنال والتطبيق بسبب اختلاف مسببات المرض وتنوعها: فيروسات (Viruses)، جراثيم (Bacteria)، فطريات (Fungi)، طفيليات (Parasites)، مواد سامة (Toxic substances)، سوء تغذية (Malnutrition)، خلل وظيفي بيولوجي (Biologically based dysfunctions). وبسبب اختلاف ظروف الحياة، فعندما كان الإنسان يعيش في مستعمرات معزولة إن العصر الحجري (Stone Age) منذ خمسة وعشرين ألف سنة كان العامل المُعدي (Infectious agent) يسبب الموت لبعض الأفراد في المستعمرة المعزولة، ولكن لم يكن ليتفشى بين أفراد بقية المستعمرات.

حاول الإنسان معرفة أصل المرض وآليته ودخل في تشعبات كثيرة في محاولته هذه ابتداءً بالأرواح الشريرة (Evil spirits) وغضب الآلهة (Angry Gods) وصولاً إلى تحديد الميكروبات (Microorganisms) كسبب رئيسي للمرض. لقد كان لاعتماد الباحثين الطبيين على التجارب العلمية التي تقبل النجاح والفشل ونشرهم للقصص المرضية الأثر الكبير في الوصول إلى دقة أكبر في التشخيص من قبل الممارسين. وهوما أسس لاحقاً لتطوير معالجات فعالة للأمراض ولتطوير اللقاحات (Vaccines) ولتطبيق التعقيم أثناء العمليات الجراحية واتخاذ التدابير الصحية والوقائية العامة، مما أدى لتقليص الأذى والوفيات بشكل كبير في المجتمعات البشرية.

أضحى من الواضح في نهايات القرن التاسع عشر أن الكثير من الأمراض لم يكن سببه العوامل المعدية كما كان مسلماً به. ومع مطلع القرن العشرين يَمّ الباحثون وجوهم شطر الأمراض العائلية (Familial diseases) وحالات السرطان (Cancer) والاضطرابات العقلية أو النفسية (Mental / psychological disorders). تزايد الاهتمام بهذا النوع من الأمراض مع إعادة اكتشاف قوانين ماندل في الوراثة من قبل كل من العلماء: هوغودوفري (Hugo de Vries)، وكارل كورن (Carl Correns)،

وايريك فون تسيرمارك (Erich von Tschermak). وكان جوان جورج ماندل (Johann Gregor Mendel) قد وضع في عام 1865 قوانينه في الوراثة التي تحمل اسمه حتى الآن.

B. الأمراض الجينية البشرية (Human Genetic Disease)

وقف الإنسان طويلاً مفتوناً ومهتماً بمسألة الشكل والتركيب التي تبديها الكائنات الحية والحفاظ عليها من جيل لآخر، وبلغه أقل تعقيداً، عندما يلد الإنسان فإنه يعطي إنساناً وليس كائناً آخر. ولكن إذا ما نظرنا وجدنا أن بني البشر يختلفون بينهم ظاهرياً. وإذا ما أمعنا النظر وجدنا أن كل الكائنات الحية على اختلاف أنواعها تبدي تغيرات ملحوظة ضمن كل نوع أو سلالة على حدة. ما الذي يضمن أو يحدد ثباتية الشكل بالحد الأدنى عبر الأجيال المتعاقبة؟

كيف يختلف أفراد النوع نفسه الواحد عن الآخر؟

لقد بدأ الإنسان بفهم الكثير حول الوراثة ابتداءً من النصف الثاني من القرن العشرين. مع العلم أنه استعمل علم الوراثة منذ ما قبل التاريخ لأغراض عملية كتهجين الحيوانات والنباتات. ومع أن طريقة التهجين لا تتطلب إماماً بمبادئ الوراثة تتطلب حكمةً وصبراً طويلاً. كما درس الكثير من الاعتلالات التي تحدث ضمن العائلة الواحدة مثل حالة (العنث) (Polydactyly) من قبل السير كينلم ديببي (Sir Kenelm Digby) وبيير لوي مورودومويرتي (Pierre Louis Moreau de Maupertuis) ورينيه أنتوان دوريمور (René Antoine Ferchault de Réaumur) في القرنين السابع عشر والثامن عشر. استنتج ديببي أن جزءاً من جوهر (Juice) الفرد يحدد طبيعة المواليد في الجيل الثاني، ولكن لسوء الحظ أهملت أفكاره بشكل كبير حول هذا الموضوع.

أجرى لاحقاً بعض العلماء في نهاية القرن التاسع عشر وبداية القرن العشرين دراسات مماثلة لإثبات الوراثة في اعتلال عي الألوان (Defects in color vision) والناعور (Hemophilia).

C. الوراثة البشرية ما بين عامي 1900 و 1957 (Human Genetics from 1900 to 1957)

غيرت إعادة اكتشاف قوانين ماندل في الوراثة في العام 1900 من مفهوم دراسة الوراثة لدى الإنسان. وكان ماندل قد أظهر أن صفات معينة في الكائن الحي تتحدد بوحدات وراثية (Units of inheritance) دعت فيما بعد بالجينات (Genes)، وتنتقل من جيل لآخر بطريقة يمكن حسابها. اقترح أرشيبالد غارو (Archibald Garrod) في عام 1908 وجود خطأ إنزيمي (Faulty Enzyme) وراء بعض الأمراض الوراثية لدى الإنسان، وصنف هذه المجموعة من الأمراض تحت مسمى: خطأ استقلابي خلقي (Inborn errors of metabolism).

وكانت البيلة الكابتونية (Alkaptonuria) الحالة التي استشهد بها غارو عن تلك الأمراض. لا تعد البيلة الكابتونية من الأمراض الخطيرة، على الرغم من أنه يتطور لدى المصابين به نوع من التهاب المفصل (Arthritis) يدعى: التَّمَغُر (Ochronosis). يتحول بول المصابين بالبيلة الكابتونية إلى أسود بعد فترة وجيزة من طرحه خارج الجسم. أثبت العلماء بعد خمسين سنة من وصف غارو للبيلة الكابتونية أن الإنزيم المعطوب هو: Homogentisic acid oxidase.

لقد كان مفهوم غارو في الاعتلالات الوراثية مهماً لسببين: من جهة لتبنيانه الأساس الكيميائي الحيوي للكثير من الأمراض الوراثية لدى الإنسان، ومن جهة أخرى لتحفيزه العلماء على البحث في الطرق الكيميائية الحيوية في الكائن الحي. كما لفت الانتباه إلى إمكانية أن المعلومات الوراثية مسؤولة بطريقة ما عن إنتاج الإنزيمات / البروتينات، وهما أثبتته الأبحاث بعد عقود من الزمن أن الجين تحدد فعلاً تسلسل الأحماض الأمينية في سلسلة البروتين.

D. تحسين النسل وسوء فهم الوراثة (Eugenics: Genetics Misinterpreted)

عزا أغلبية العلماء والناس معاً خلال الربع الأول من القرن العشرين كل علة / خلة تصيب عائلة ما إلى سبب وراثي وفي كثير من الحالات تم الاستخفاف أو تجاهل معايير / مفاهيم الوراثة المندلية، وغالباً لم تؤخذ العوامل البيئية والاجتماعية في الحسبان.

تسبب البلاغرة (Pellagra) آفات جلدية (Skin lesions) واضطرابات عصبية وعقلية خطيرة (Severe nervous and mental disorders). كان هذا المرض شائعاً في جنوب الولايات المتحدة في بدايات الـ 1900. ظن قسم من الباحثين أن المرض معد، وجادل قسم آخر يعمل في مجال الوراثة أن سببه وراثي بسبب ظهور المرض في بعض المرات لدى الآباء والأبناء. ولكن الباحث السريري جوزيف غولديبرجي (Joseph Goldberger) لاحظ في عام 1916 أن البلاغرا ليست ذات منشأ خمجي ولا منشأ وراثي، ولكن بسبب عوز تغذوي (Nutritional deficiency) وهو غياب فيتامين النياسين (Vitamin niacin) في الوجبات الغذائية. ومع ذلك بقيت فكرة أن مرض البلاغرة مرض وراثي متجذرة في الولايات المتحدة، وأنه مرض عضال. لذا لم توص الجهات الرسمية بأخذ النياسين كمتعم غذائي حتى العام 1933.

لقد دلت هذه الحالة أن وجود خلة Trait ما في عائلة ما عبر أجيال متتالية ليس بدليل كاف على أن الخلة سببها وراثي. وأنه يتوجب تطبيق معايير أكثر صرامة قبل أن تعزى الخلة لسبب وراثي، وخاصة لدى دراسة الخلات المعقدة (Complex traits) المتعلقة بالمكونات السلوكية (Behavioral components) مثل الذكاء (Intelligence) والشخصية (Personality).

نفشى بين الناس في مطلع القرن العشرين اعتقاد أن كل صفات الإنسان السلوكية ذات منشأ وراثي، وحتى الكثير من الملامح أو السلوكيات الاجتماعية والثقافية عدت ذات أساس وراثي: كالتقوى (Piety)

والفقر (Poverty) والنجاح (Success) والاضطرابات العقلية (Mental disorders) والإجرام (Criminality) والذكاء (Intelligence). وبأن هذه الصفات تنتقل ضمن عائلات معينة من جيل لآخر. بناءً على هذا المفهوم المغلوط للوراثة نشأت فكرة أن الحضارة (Civilization)، وترمز الحضارة هنا للأثرياء المنحدرين من أصول أوروبية شمالية (Northern Europeans)، في خطر من انحطاط/ تنكس وراثي (Genetic degeneration) بسبب أن الجينات السيئة (Bad genes)، ويقصد بالجينات السيئة أولئك الفقراء أو ذوو الأصول الأخرى ما عدا الأوروبية الشمالية، سوف تتفوق عددياً (Outnumber) على الجينات الجيدة (Good genes)، ولمنع هذه المصيبة فقد أسست منظمات هدفت إلى تشجيع الأزواج ذوي الجينات الجيدة على التنازل والتكاثر، وإلى إيجاد السبل الكفيلة بمنع ذوي الجينات السيئة من الإنجاب والتكاثر.

يدعى مبدأ تحسين النسل البشري عن طريق تشجيع زيجات معينة ومنع أخرى بمصطلح تحسين النسل (Eugenics). غدت حركة تحسين النسل (Eugenics movement) في العالم واسعة الانتشار وذات تأثير واضح في صياغة القوانين الفيدرالية الخاصة بالهجرة (Federal immigration laws)، زيادةً على ذلك دفعت هذه الحركة باتجاه إنجاز مشروع قانون في الولايات المتحدة يسمح بموجبه بإجراء تعقيم بأمر قضائي (Court-ordered sterilization) للأشخاص عديمي الأهلية لمنعهم من إنجاب الأطفال. وفي عام 1927 أيدت المحكمة العليا في الولايات المتحدة (United States Supreme Court) بثمانية أصوات مقابل واحد قانون تطبيق التعقيم بأمر قضائي بهدف تحسين النسل، وكانت وجهات نظر القضاة تدور في فلك إعلان القاضي أوليفر ويندل هولمز (Oliver Wendell Holmes) القائل: يكفي ثلاثة أجيال من الحمقى (Three generations of imbeciles are enough). فقدت حركة تحسين النسل مصداقيتها في الأربعينيات من القرن الماضي بعد الأعمال المروعة (Horrendous) للنازيين (Nazis).

أدرك العلماء لاحقاً أن مساهمة الوراثة في صحة الجسم الفيزيائية (Physical health)، وفي الذكاء، وفي الصفات المعنوية والأخلاقية (Moral character) معقدة إلى حد كبير. وأضحى جلياً أن الفرضيات الحيوية الأولية لحركة تحسين النسل كانت مبنيةً على معلومات بلا براهين. وأن الكثير من الصفات الظاهرية (Phynotype) لدى الإنسان ما هي إلا تآزر بين العوامل الوراثية والبيئية.

ساهمت دراسة الوراثة البشرية منذ العام 1950 بشكل ملحوظ في تحديد الأمراض الوراثية والحالات المعقدة ذات الملامح الوراثية. وتطورت الطرائق الرياضية التي مكنت الباحثين من استنباط أنماط من الوراثة، وذلك بعد فحص عدد كبير من الإخوة ضمن الجيل الواحد. وسجلت 500 حالة وراثية معظمها مرضية.

لقد عرف القليل عن العواقب الكيميائية الحيوية لتلك الأمراض، لا بل كانت العلاقة ما بين مرض وراثي ما وجين معطوبة (Defective gene) غامضةً تماماً. ولم تتبكر أي معالجة نوعية للأمراض الوراثية،

ولم تطور حتى طريقة لتشخيص هذه الأمراض. وهكذا بدت دراسة الوراثة البشرية عقيمة في بداياتها، ولم تلح في الأفق طريقة جديدة لسبر أسس الأمراض الوراثية البشرية.

E. دراسة الجينات على المستوى الجزيئي (The Molecularization of Genetics)

أحدث العالمان: جيمس واتسون (James D. Watson) وفرانسيس كريك (Francis H. C. Crick) في العام 1953 ثورة في كل العلوم الوراثية والبيولوجية، وذلك باكتشافهما البنية الحلزونية الثنائية للحمض النووي الريبسي منقوص الأوكسجين (DNA, Deoxyribonucleic acid). وتغيرت إلى الأبد دراسة الأمراض الوراثية البشرية عندما أصبحت هذه الدراسة على المستوى الجزيئي. البيولوجيا الجزيئية (Molecular biology) هي تقاطع لعلوم الوراثة والكيمياء الحيوية هدفها فهم آليات العمليات الحيوية ضمن الخلية على المستوى الجزيئي، أي على مستوى البروتين والـ DNA والـ RNA (RNA, Ribonucleic acid)، وذلك بغية معرفة الآلية التي تسبب فيها التغيرات في هذه الجزيئات الكبيرة (Macromolecules) تعطيلاً للعمليات الحيوية.

لقد كان فقرُ الدَّمِ المُنْجَلِيّ (Sickle cell anemia) المثل الأول الذي بيّن علاقة تغير بنية جزيئة حيوية بظهور مرض وراثي. وجد العالم فيرون انغرام (Vernon Ingram) في العام 1957 باستخدام تقنية البصمة الاستشرابية للبروتين (Protein fingerprinting) وتقنية سلسلة (Sequencing) البروتين أن الهيموغلوبين المنجلي (HbS) يختلف عن الهيموغلوبين الطبيعي بحمض أميني واحد في السلسلة بيتا. لقد استبدل الحمض الأميني السادس حمض الغلوتاميك (glutamic acid) في الهيموغلوبين الطبيعي بالحمض الأميني الفالين (Valine) في الهيموغلوبين المنجلي. يسبب هذا الاستبدال تغيراً في خواص الهيموغلوبين وزيادة في لزوجته داخل كريات الدم الحمراء مؤدياً إلى تسويه شكلها.

تمكّن العلماء بعد مضي ربع قرن من تطبيق تقنية سلسلة الدنا لتحديد نوع التغيرات التي تحدث على مستوى الجين المسؤولة عن ظهور أمراض وراثية لدى الإنسان. تعد أبحاث تحدي وعزل ووصف الجينات المسببة للأمراض الوراثية المختلفة من الأعمال الشائعة في مجال الوراثة البشرية.

F. مصدر للمعلومات حول الاعتلالات الوراثية لدى الإنسان على الشبكة
(OMIM: Online source of information about human genetic disorders)

أسس فيكتور ميكوسيك (Victor McKusick) الباحث في علم الوراثة البشرية في جامعة Hopkins نشرة (Catalog) للاعتلالات البشرية الوراثية البشرية في عام 1966 دون فيها 1487 حالة. يطلق اليوم على هذه النشرة اسم: OMIM، وهو اختصار لمجموع الأحرف الأولى من الكلمات التالية:
Online Mendelian Inheritance in Man

كبر فيما بعد المشروع ليضم اليوم أكثر من 15000 حالة، وهي في متناول اليد على الموقع:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query>

تحدد كل حالة مدونة في هذا الموقع برقم سداسي بجانب الرمز OMIM. تمتلك كل حالة اضطراب وراثي بشري مدونة في ال OMIM مجموعة من المعلومات حول الاعتلال وأساسه الجزيئي ووراثته والملاحم والتدابير السريرية هذا الاعتلال. كما تصاحب كل حالة قائمة من المراجع تتيح للباحثين التوغل عميقاً في أدبيات الاعتلال. يوجد في أيامنا هذه الكثير من المواقع على الشبكة المختصة بالاعتلالات الوراثية.

G. التطبيقات السريرية لعلم الوراثة الطبية:

لقد أصبحت الأمراض التي تحددها الوراثة الآن موضوعاً ذا أهمية متزايدة للصحة العامة في المجتمع، بعدما أصبح في الإمكان التحكم في معظم العدوى، وبعد أن أنقذت الرعاية الطبية الحديثة، ووسائل التمريض الجيدة، كثيراً من الأطفال الذين كانت تُحصد في الماضي أرواحهم بعد الولادة بمدة بسيطة. دعت هذه الحالة إلى الحاجة المتزايدة إلى الاستئصاح الوراثية Genetic counselling، وعمل اختبارات التنقيص الجيني (Genetic screening)، وذلك للكشف عن حاملي الجينات المصابة، وعن الحمل الذي يشكل خطورة وراثية.

H. التقييم والاستئصال الوراثي:

بدأ دافنبورت (Davenport) إعطاء بعض النصائح الوراثية في مرحلة مبكرة تصل إلى سنة 1910 في الولايات المتحدة الأمريكية، وأنشئت أول عيادة للمشورة الوراثية في إنجلترا في عام 1946 في شارع غريت أورموند (Great Ormond)، بلندن. واستدعى الإقبال المتزايد من الجمهور، على تنامي عدد مراكز الاستشارات الوراثية.

بجانب التقييم الدقيق للخطورة التي يمكن أن تكتنف العائلة، يحتاج طبيب علم الوراثة أيضاً أن يناقش كل خيارات الإنجاب. فقد حدثت تطورات مهمة فيما يخص التشخيص الوراثي قبل التعشيش، مع إتاحة الخيار لإنهاء الحمل. ومن هذا المنطلق ازدادت الحاجة إلى مسألة الاستئصال الوراثي.

إن التشخيص الوراثي قبل التعشيش أعطى نوعاً من الضمان للزوجين اللذين لديهما خطورة عالية لحدوث اضطرابات وراثية، وسمح لكثير من الأزواج الذين كان يثنيهم الخوف من خطورة إصابة نسلهم باضطرابات وراثية، أن يحصلوا بعد تلك المشورة على أطفال أصحاء.

I. التشخيص قبل الولادة:

لقد تمت محاولة بزل السلى (Amniocentesis) من أجل التشخيص الوراثي أول مرة في سنة 1966، وكانت أول حالة تكتشف المذوذ الصبغي في سنة 1969 (متلازمة تثلث الصبغي 21) (Trisomy 21)، أما الآن فقد أصبح بزل السلى من أجل الاستقصاءات الصبغية عملاً روتينياً في ممارسة رعاية الأمومة أثناء الحمل، وقد وصلت حالات الشذوذات الصبغية المختلفة التي يمكن الكشف عنها إلى مئتين. بجانب ذلك يفيد بزل السلى أو أخذ عينات من الزغابات المشيمائية (Chorionic Villi) في إمكانية الكشف عن تغيرات كيميائية حيوية في مسار أمراض أخطاء الاستقلاب الوراثية. استعملت تلك الوسائل أول مرة سنة 1968 أثناء الحمل للكشف عن خطورة حدوث متلازمة ليش - نيهان (Lesch - Nyhan Syndrome)، ومنذ ذلك الوقت، استخدمت تلك الطرق بنجاح للكشف قبل الولادة عن أكثر من 150 مرضاً من أمراض أخطاء الاستقلاب الوراثية.

من ناحية أخرى يمكن استخدام تحليل الدنا لعينات من الجنين للتشخيص قبل الولادة. لقد تم اللجوء إلى هذا المنحى الاستقصائي أول مرة في عام 1976 في حامل كان يشك بخطورة حدوث التلاسيميا الفا لدى جنينها. ومنذ ذلك الوقت حتى الآن، تستخدم في أكثر من 200 اضطراب مختلف يصيب الجنين الفردي، وفي بعض هذه الاضطرابات مثل التليف الكيسي (Cystic fibrosis)، ومتلازمة الصبغي X

الهش (Fragile X Syndrome)، والحنث العضلي لدوشين (Duchenne muscular dystrophy)، أصبحت هذه الوسيلة هي الطريقة الرئيسية في التشخيص قبل الولادي.

إن الاختبارات التي تشخص الشذوذات الصبغية أو الكيميائية أو تغيرات الدنا (DNA) لا تستطيع أحياناً أن تكشف عن كثير من التشوهات الخلقية الكبيرة. وعندها، قد تكون المقاربة البديلة للتشخيص هي الرؤية المباشرة للجنين. استعمل التصوير بأجهزة فائق الصوت عالي الميز High Resolution ultrasound في هذا الاتجاه. وكان استعماله أول مرة في تشخيص حالة جنين معدوم الدماغ (Anencephaly) سنة 1972، ومنذ ذلك الوقت استعملت هذه الوسيلة في الكشف عن أكثر من 400 نمط مختلف من التشوهات الجنينية.

ل. العلاج والوقاية من الأمراض الوراثية:

تزداد مع مرور الوقت احتمالات المقدرة الفعالة على معالجة الأمراض الوراثية، ففي سنة 1990 تمت أولى المعالجات بواسطة تطبيق العلاج الجيني البشري لاضطراب جيني فرداني مثل نقص إنزيم الأدينوزين دي أميناز Adenosine deaminase deficiency. وتنامت الاهتمامات البحثية في هذا المجال بشكل نشط ومكثف، حتى نهاية عام 1994 كانت الساحة تكتظ بأكثر من 100 بروتوكول بحث تم الموافقة عليها في مجال العلاج الجيني، (60% منها يتعلق بعلاج السرطان، 25% لعلاج اضطرابات الجين الفرداني، 10% لعلاج مرض نقص المناعة المكتسب AIDS).

لا تترك الغالبية العظمى من الأزواج أن لديهم عوامل خطورة وراثية إلا حينما يرزقون بطفل مصاب. وربما كان هذا هو الحافز على تزايد إجراء عمليات التقصي (Screening). على سبيل المثال، قياس مستوى ألفا فيتوبروتين Alpha Telo protein ومواد أخرى في مصل الحامل، للكشف عن الحمل الأكثر خطورة لحدوث عيب في القناة العصبية، أو اضطرابات صبغية أخرى. لقد أدخلت عمليات التقصي الوليدي (Neonatal Screening) عام 1961، للكشف عن بيلة الفينيل كيتون (Phenyl - ketonuria)، وحالات مرضية أخرى كثيرة، إذ يتيح التشخيص والعلاج المبكران نمواً وتطوراً سوياً للطفل، وقد يكون من المحتمل في المستقبل أن تتطور عمليات التقصي على مجموع السكان، سواء قبل الولادة، أو بعدها مباشرة، أوحى قبل الحمل. ربما يقلل هذا التوجه من شيوع أمراض وراثية كثيرة بما يحمله ذلك من منفعة للعائلات، وللمجتمع بشكل عام.

K. الخلاصة

لفهم المبادئ الأساسية للوراثة البشرية ينبغي أولاً : إدراك المفاهيم الرئيسية التي تحدد نمط انتقال وحدات المعلومات الوراثية (Genes) من جيل إلى آخر، وهو العلم الذي أسسه ماندل (Mendel) وخلفه من بعده كثير من العلماء، ويشكل الأساس لدراسة الصفات الموروثة لدى البشر وكائنات حية أخرى تتكاثر بالجنس.

ثانياً: إنه من الأهمية بمكان معرفة كيفية فك المعلومات المشفرة الموجودة في الدنا (DNA) وكيفية إنتاجها للبروتينات، وهو علم البيولوجيا الجزيئية.

سنعرض في هذا الكتاب مجمل المحاور السابقة، بما يخدم اهتمامات طلبة العلوم الطبية، ويلبي احتياجاتهم الوراثية الطبية، متوخين نقل المعلومات بالقدر الممكن من الدقة والصحة.

والله من وراء القصد.

المؤلفون

الفصل الأول

الوراثة المندلية

Mendelian Inheritance

المحتويات Contents

- | | |
|-----------------------------------|-----------------------------|
| 7.1. الوراثة البشرية | 1.1. السيادة، التتحي، الفصل |
| 1.7.1. الوراثة الجسدية السائدة | 2.1. التصلب الاختياري |
| 2.7.1. الوراثة الجسدية المتنحية | 3.1. التفاضل المستقل |
| 3.7.1. الوراثة المرتبطة بالصبغي X | 4.1. الارتباط الجيني |
| 8.1. التأثيرات البيئية | 5.1. إنشاء الخرائط الجينية |
| 9.1. الانتفاذ والتعبير | 6.1. الألائل المتعددة |

مكّنت التجارب المصممة جيداً والأفكار النيرة مَاندَل (Mendel) من وضع المبادئ الأساسية في الوراثة. وقد اختار لذلك حديقة تكاثر فيها البازلاء (Pea). وقام بإجراء التأثير الذاتي (Self-pollination)، ومن ثم منع حدوث تلوث وراثي (Genetic contamination) بين أنسال النباتات (Offspring plants) الذي ينجم عن التلقيح المتبادل (Cross-pollination). كما استطاع مَاندَل باستخدام التخصيب الذاتي في بعض التجارب خلق تهجينات جينية محددة (Genetically precise crosses) إذ قام بنزع السداة (Stamen)، وهو العضو الذكري في الزهرة، قبل تشكل حبات طلع (Pollen grains) ثم قام بتأبير / بتغفير (Dusting) المدقة (Pistil) الباقية، وهي الجزء الأنثوي في الزهرة، بحبات طلع من ذُرِّيَّة (Strain) من اختياره.

وتعد دراسة خَلَّة (Trait) مفردة وانتقالها من جيل (Generation) إلى الذي يليه من أحد أهم القرارات التي اتخذها مَاندَل وقتها. فقد تفحص البذور من ناحية شكلها (Seed shape): مدورة (Round) أو مجعدة (Wrinkled)، ومن ناحية لونها (Seed color): صفراء (Yellow) أم خضراء (Green). كما فحص الجذوع من إذ طولها أو قصرها (Stem height)، ولون الأزهار (Flower color) بيضاء (White) أم أرجوانية (Purple). شكل القرن الحاوي على البذور (Pod shape) منتفخة (Inflated) أو مقعرة (Pinched). لون القرن الحاوي على البذور (Pod color) أخضر أم أصفر. موضع الأزهار (Flower position) في النبتة مَحْوَريّ (Axial) أو مِطْرَاف (Terminal).

استخدم مَاندَل في تجاربه سلالات (Lines) أو ذراري (Strains) من نباتات قادرة على إعطاء صفة من كل من هذه الصفات التي اختارها للدراسة. فزواج مثلاً النباتات التي تعطي فقط البذور المدورة مع تلك التي تعطي فقط البذور المجعدة، وتلك التي تعطي فقط البذور الصفراء مع تلك التي تعطي فقط البذور الخضراء، وهكذا دوليك. ثم حول مَاندَل نتائجه إلى بيانات رقمية وذلك بعد البذور كل حسب صفاتها التي ورثتها من جيل الأباء والأجداد.

لاحظ مَاندَل بعد قيامه بعد تزاوجات متصالبة مختلفة نماذج من الوراثة تمثل علاقات رياضية متناسقة بسيطة.

1.1. السيادة، التثني، الفصل

(Dominance, Recessiveness, Segregation)

عندما صالبا ماندا نباتات تعطي دائما بذورا مدورة مع تلك التي تعطي دائما بذورا مجعدة حصل في الجيل الأول على نباتات تنتج بذورا مدورة. ثم ترك نباتات الجيل الأول يزاوج بعضها بعضاً فحصل في الجيل الثاني على نباتات تنتج بذورا مدورة وأخرى تنتج بذورا مجعدة، وكانت نسبة البذور المدورة إلى المجعدة 3 إلى 1. وقد لاحظ الشيء نفسه لدى دراسة كل زوج من أزواج الصفات الأخرى.

أدرك ماندل أن الوراثة (Inheritance) هي ظاهرة حيوية ثابتة ولم تعتمد على الصفة التي درست. لفهم نتائج الدراسات الوراثة لا بد أولاً من وضع رموز وراثية واضحة للأفراد المشتركين في الدراسة.

● الجيل الوالدي (Parental generation): يُرمز له بـ P_1 .

● يدعى نسل الجيل الوالدي بالجيل البنوي الأول (First filial generation): يُرمز له بـ F_1 .

● يدعى النسل الناجم عن تزاوج يكون فيه كلا الأبوين أو أحدهما من الجيل البنوي الأول (F_1) بالجيل البنوي الثاني (Second filial generation): يُرمز له بـ F_2 .

وجد ماندل لدى مصالبته النباتات التي تعطي البذور المدورة وتلك التي تعطي البذور المجعدة أن صفة المجعدة لا تظهر على البذور إلا في الجيل الثاني دون الأول. وذلك بعد التخصيب ما بين نباتات الجيل الأول ($F_1 \times F_1$). وكانت صفة تجعد البذور مطابقة في الجيل الثاني (F_2) لتلك الموجودة في جيل الآباء (P_1).

استنتج ماندل أن العامل المسؤول عن تجعد البذور كان موجوداً في نباتات الجيل الأول، ولكنه لم يؤثر على شكل البذور في هذه النباتات، بل انتقل كوحدة مستقلة إلى نسل الجيل الثاني. كان التفسير الأبسط لتلك التجربة أن نباتات الجيل الأول امتلكت عاملين (جينتين) مسؤولين عن شكل البذور أحدهما مسؤول عن صفة التدوير والآخر عن صفة التجعيد. بناءً على هذا الاستنتاج فإن النباتات الأبوية التي تعطي البذور المدورة يجب أن تملك جينتين كل واحدة منهما كافية لتمنح بذورها صفة التدوير. بشكل مشابه تمتلك النباتات الأبوية التي تعطي البذور المجعدة جينتين مختلفتين عن تلك الجين المسؤولة عن صفة التدوير.

استنتج ماندل أيضاً أن عدد العوامل المحددة لصفة ما تبقى نفسها من جيل للذي يليه، وبحتمية وجود آلية تؤمن استقبال كل من خلايا البيضة والطلع لعدد مفرد من زوج الجينات (العوامل) من كل أب. وبالرغم من أن ماندل لم يكن لديه دراية بالصبغيات توافقت حدسه حول توزيع الجينات من جيل للذي يليه بدقة متناهية مع الانقسام الانتصافي Meiosis.

أدرك ماندل أنه في نباتات الجيل الأول كانت جين وحيدة كافية لظهور صفة التدوير على البذور. ولم يكن للجين المسؤولة عن صفة التجعيد أي تأثير في البذور رغم وجودها بين الجينات المسؤولة عن

شكل البذور في الجيل الأول (F_1). ووفقاً لذلك فقد فهم ماندل أن ظهور صفة ما لا يعكس بالضرورة التركيب الوراثي الضمني لكائن ما.

يدعى في أيامنا هذه ظهور أي صفة بانمط الظاهري (Phenotype)، أما التركيب الوراثي فيدعى بالانمط الجيني (Genotype).

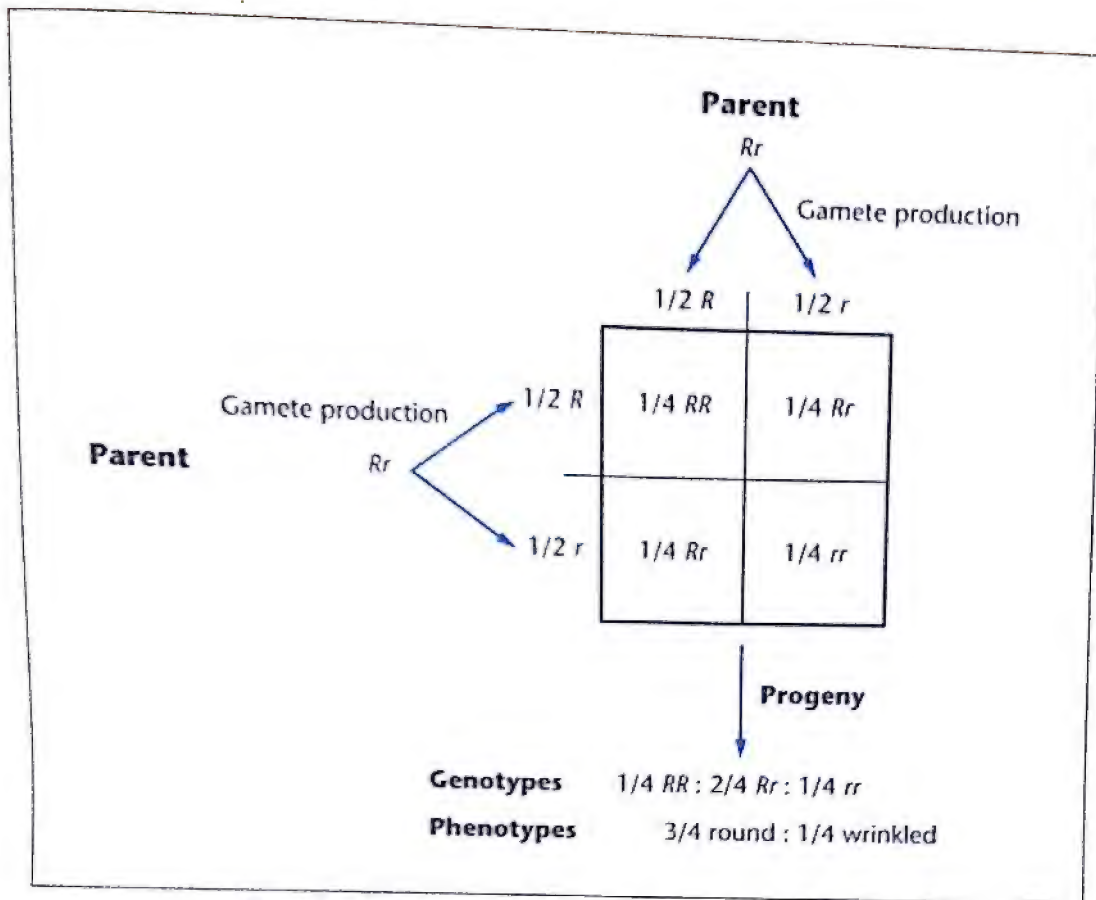
يتألف النمط الجيني في نباتات الجيل الأول (F_1) في دراسة ماندل من جين مسؤولة عن صفة البذور المدورة وأخرى مسؤولة عن صفة البذور المجعدة. وعندما يدرس نمط جيني ما فإن كل أزواج الجينات التي ليست تحت الدراسة تنحى جانباً. الجينات التي تحدد صفة شكل البذور (مدورة، مجعدة) هي أشكال متبدلة (ألائل: Alleles) لجين شكل البذور في نبات البازلاء. يقال على أليل صفة تدوير البذور أنه سائد (Dominant) لأن النمط الظاهري لكل البذور في نباتات الجيل الأول كان مدوراً. أما الأليل المسؤول عن صفة تجعيد البذور فيقال عنه الأليل المتنحي (Recessive allele).

يدعى الكائن الحي الحاروي على أليلين مختلفين لجين ما زيجوت مُتغايرة الألائل (Heterozygote)، وذلك الحاروي على أليلين متشابهين زيجوت مُتماثلة الألائل (Homozygote). وفي حال كان تعبير الأليلين سائداً في كائن حي عندها يسمى ذلك الكائن زيجوت متماثل الألائل سائد (Homozygous dominant)، وإذا ما كان تعبير كلا الأليلين الموجودين في كائن حي متنحياً عندئذ يدعى الكائن الحي زيجوت متماثل الألائل متنحياً (Homozygous recessive).

يستخدم في الدراسات الوراثية لدى الكائنات الحية حيوانية كانت أم نباتية حرف وحيد كرمز للجين. يختار الحرف عادةً ليدل على بعض من صفات النمط الظاهري المحددة بالأليل السائد. ويكون الحرف كبيراً ومائلاً إذا كان الأليل سائداً وصغيراً ومائلاً إذا كان الأليل متنحياً. مثلاً يرمز للأليل المسؤول عن صفة التدوير في بذور البازلاء بـ R والألائل المسؤولة عن الصفات المتنحية لشكل البذور بـ r . وعليه فإن النمط الجيني لنباتات البازلاء في دراسة ماندل السابقة هو كالتالي: RR للزيجوت متماثل الألائل السائدة، rr للزيجوت متماثل الألائل المتنحي، Rr للزيجوت مُتغايرة الألائل.

يجب التنويه هنا أنه في مصطلحات الوراثة الدقيقة فإن التنحي والسيادة هما صفتان من صفات الأنماط الظاهرية وليس من صفات الجينات أو الألائل. ومع ذلك يتجنب الكثير من كتب الوراثة ذكر هذا التمييز لأن تعبير الأليل المتنحي والأليل السائد متأصل في فكر الكثير من الباحثين في علم الوراثة. ولن نخالف في هذا الكتاب سنة الأولين في استخدام تسمية الأليل السائد والأليل المتنحي.

عندما زواج ماندل في دراسته (صفة شكل البذور) بين نباتات الجيل الأول ($F_1 \times F_1$) كانت تلك النباتات تحمل النمط الجيني ($Rr \times Rr$)، بكلام آخر نصف الأعراس المتولدة عن تلك النباتات كانت تحمل الأليل R والنصف الثاني كان يحمل الأليل r . يستعمل مربع أنيت Punnett square (نسبة لعالم الوراثة في جامعة كامبريدج Punnett الذي نشر هذه الطريقة) لإظهار جميع التراكيب المحتملة لاجتماع الأعراس التي تتشكل أثناء الإلقاح العشوائي (شكل 1-1).



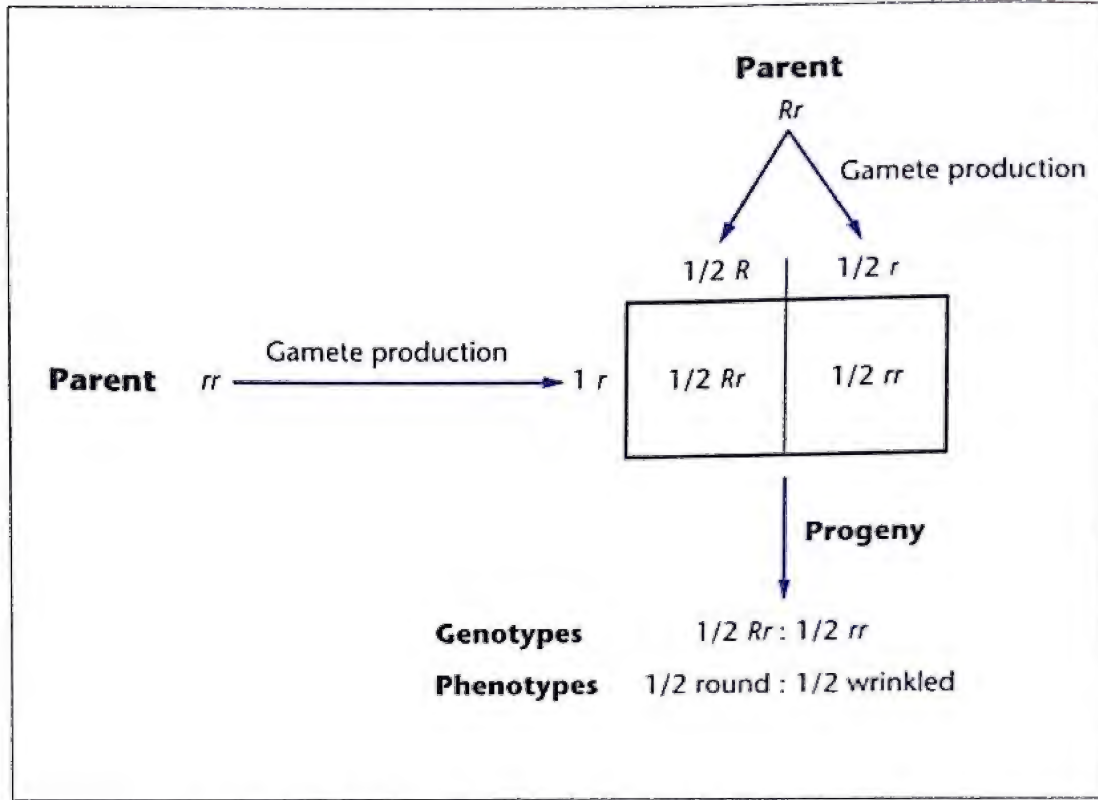
(شكل 1-1): مربع أنت يظهر نتائج التصلاب ما بين نباتات الجيل الأول .

تتحد الأعراس خلال عملية الإخصاب (Fertilization) بشكل عشوائي، وينتج عن ذلك عدة تراكيب جينية. بتعبير آخر، يمتلك نسل (F_2) ثلاثة أنماط جينية هي: RR ، Rr ، rr . ونمطين ظاهريين بالنسبة لشكل البذور: مدور ومجعد. وبحسب قانون الاحتمالات فإن $\frac{1}{4}$ النسل سيحمل النمط الجيني RR و $\frac{1}{4}$ النسل سيحمل النمط الجيني rr و $\frac{1}{2}$ النسل سيحمل النمط الجيني Rr .

وفيما يتعلق بنباتات الجيل الثاني (F_2) فإن تكراريات النمط الجيني فيها ستتوزع وفق النسب التالية: $\frac{1}{4}$ زيجوت متماثل الألائل سائد RR ، $\frac{1}{2}$ زيجوت مُتغايرة الألائل Rr ، $\frac{1}{4}$ زيجوت متماثل الألائل متحدي rr ، أو بنسبة 1 : 2 : 1. وأما تكرارية النمط الظاهري التي لاحظها ماندل في نسل نباتات هذا الجيل فكانت وفق النسبة التالية: 3 : 1 وتعني ثلاثة أرباع النباتات تنتج بذوراً مدورة (RR أو Rr) مقابل ربع النباتات تنتج بذوراً مجعدة (rr).

لفحص مدى صحة العلاقة ما بين النمط الجيني والنمط الظاهري زواج ماندل ما بين نباتات Rr مع نباتات rr . تنتج النباتات Rr مناصفةً أعراساً تحمل إما الأليل R وإما الأليل r ، وستحمل كل أعراس النباتات rr الأليل r . وستكون نسبة النمط الجيني المتوقع في الجيل الأول الناجم عن هذا التزاوج 1 : 1

لكل من النمطين Rr و rr ، وكذلك نسبة النمط الظاهري ستكون $1 : 1$ بالنسبة لصفتي التدوير والتجعيد (شكل 1-2)



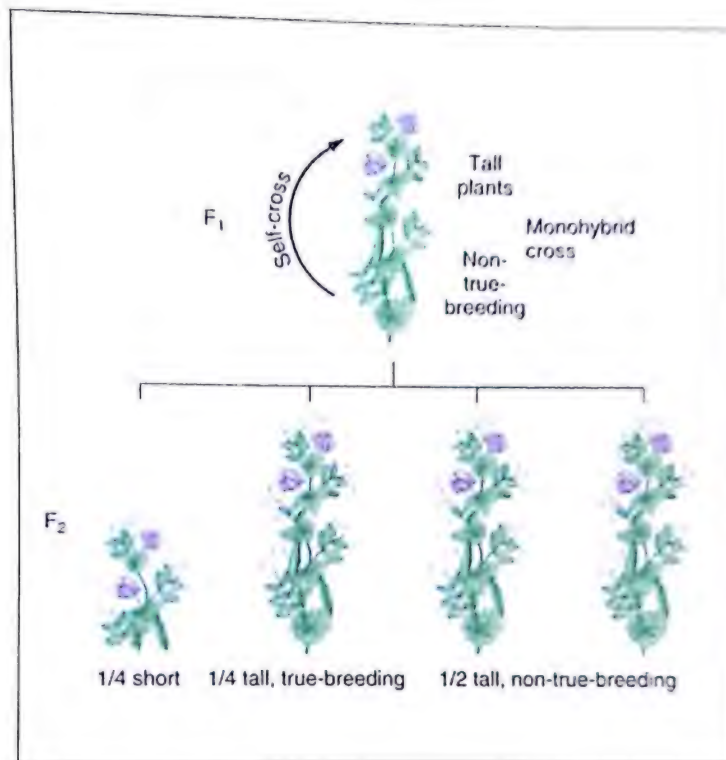
(شكل 1-2): مربع أنت يُظهر نتائج التصلب ما بين نباتات RR ونباتات rr .

2.1. التصلب الاختباري (Test cross)

يُبدى النمط الجيني لكائن حي من الجيل الأول نجم عن تزاوج والدين متماثلتي اللواقح أحدهما سائد وآخر متنحياً ظاهرياً سائداً. ولمعرفة النمط الجيني للنباتات قام ماندل بإجراء تصالبات ذاتية (Self-crosses) بين النباتات نفسها فيما يتعلق فقط في الخلات التي حددها في دراسته. تُدعى هذه التجربة ب: هجين أحادي الخلة (Monohybrid cross).

على سبيل المثال لمعرفة النمط الجيني للنبات طويل الساق (باعتبار صفة قصير الساق هي صفة متنحية tt)، إذا نتج عن تهجين فرد طويل الساق مع فرد قصير الساق أفراد طويلة الساق وأفراد قصيرة الساق يكون الفرد طويل الساق ذا نمط وراثي هجين Tt وليس نقياً TT وذلك بسبب ظهور صفة قصير الساق من جديد (شكل 1-3) يُطلق على الأفراد التي تعطي لدى مزاجتها بعضها مع بعض صفات مختلفة عن تلك المشاهدة في جيل الآباء باستيلاذ غير حقيقي **Non-true-breeding**. يعادل مصطلح **non-true-breeding** في دراسة ماندل مصطلح زيجوت مُتغايرة الألائل (Heterozygote).

في حين إذا تم تهجين الفرد طويل الساق مع فرد طويل الساق نقي (وهي الصفة السائدة) لمعرفة النمط الوراثي للأول فسيُنتج أفراد كلها طويلة الساق. يُطلق على الأفراد التي تعطي لدى مزاجتها بعضها مع بعض الصفات الأساسية نفسها دائماً باستيلاء حقيقي **True-breeding**. لقد كان مادل موفقاً إلى حد كبير في الألائل التي اختارها لدراسته إذ عبّرت الألائل السائدة عن خلة سائدة واحدة، بمعنى آخر أعطى كل من النمطين الزيجوت متماثل الألائل السائد والزيجوت مُتغايرة الألائل النمط الظاهري نفسه.



(شكل 1-3) تجربة هجين أحادي الخلة (Monohybrid cross) بالنسبة لطول ساق النبات.

درس الباحثون لاحقاً بعد إعادة اكتشاف أعمال مادل عدة صفات لجينات مفردة في كائنات حية مختلفة. ووجدوا أن الذين يملكون أنماطاً جينية لزيجوت متخالف الألائل غالباً ما يبدون أنماطاً ظاهرية مختلفة عن تلك التي تنجم عن الأنماط الجينية للزيجوت متماثل الألائل السائد وللزيجوت متماثل الألائل المتنحي.

إن مفهوم السيادة (Dominance) في الكثير من الأمثلة ليس هو بالظاهرة الكاملة ولا بالبسيطة، فالألائل المتنحية في الزيجوت مُتغايرة الألائل يمكن أن تساهم أوتعدل في النمط الظاهري، رغم أن هذا التعديل قد لا يبدول للعيان ببساطة دون إجراء فحوص كيميائية حيوية أو مجهرية. وإنه لمن الخطأ الجسيم الاعتقاد أن الأليل السائد هو أفضل من ذاك المتنحي. فالسيادة هي بروز تعبير أليل ما لدى

الزيجوت متغايرة الألائل. تتجسم الأمراض الوراثية لدى الإنسان إما عن الألائل سائدة أو عن الألائل متنحية. كما يجدر التنويه هنا إلى أنه من المستحيل إجراء الدراسات الجينية دون وجود لألائل مختلفة، فإذا ما كان أفراد كائن حي ما هم جميعاً من متماثلتي الألائل فإننا سنكون أمام نمط جيني وحيد ولن تظهر تجارب الإخصاب شيئاً حول نمط وراثته هذه الأليل.

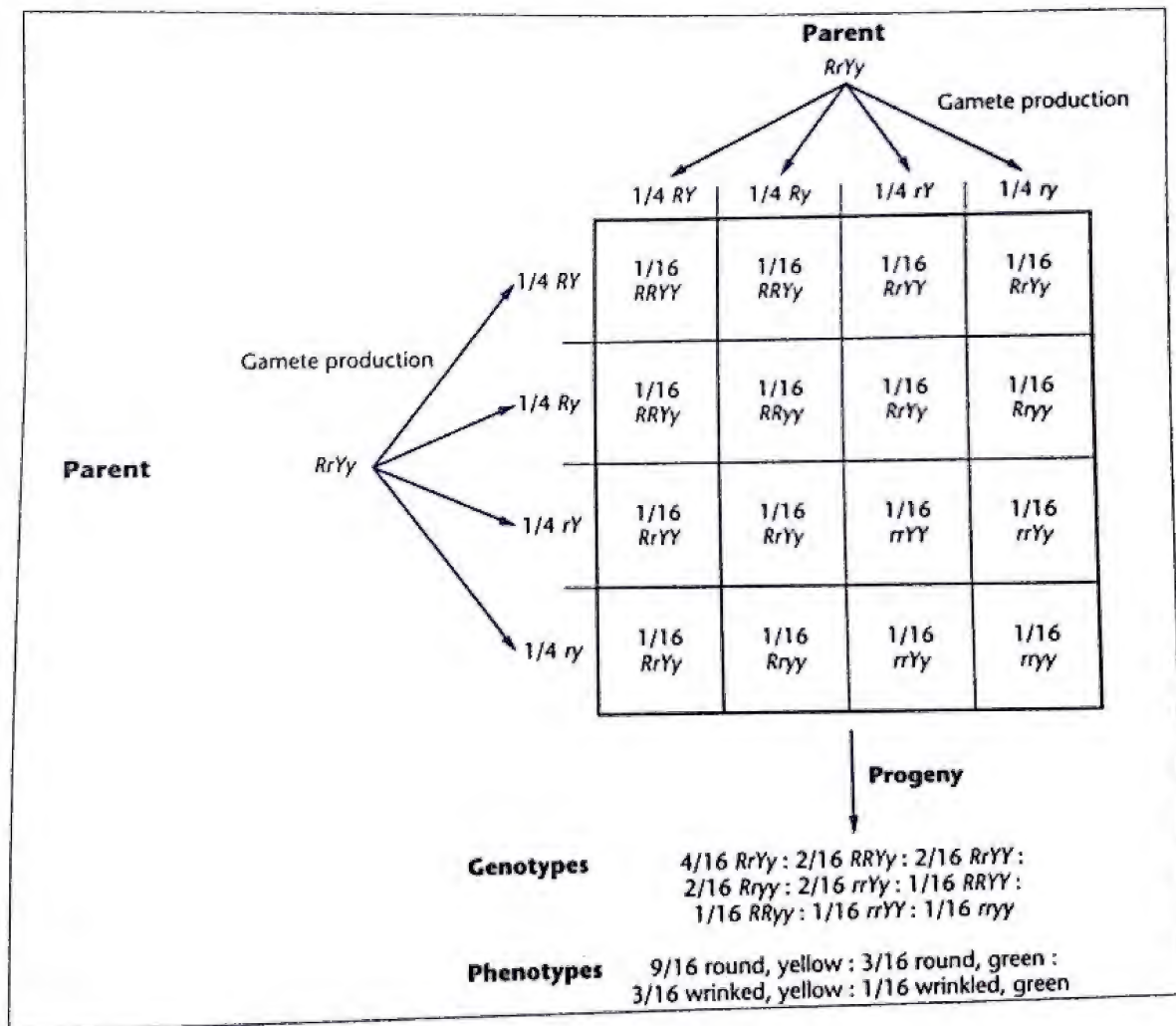
3.1. التفاضل المستقل (Independent Assortment)

درس ماندل بالإضافة إلى التصلاب وحيدة الجين (Monogenic cross) الترافق المحتوم لصفيتين محددين بزوجين من الجينات أو ما يسمى بالتصلاب ثنائي الجين (Digenic cross). وافترض أن الجينتين إما أن تنتقلا بشكل مستقل الواحدة عن الأخرى من جيل إلى الذي يليه، أو أنهما تنتقلان معاً. فمثلاً، لدى مصالبة النباتات التي تعطي بذوراً مدورة وصفراء ($RRYY$) مع تلك التي تعطي بذوراً مجمدة خضراء ($rryy$) فإن نباتات الجيل الأول ستحمل النمط الجيني التالي ($RrYy$)، وستعطي بذوراً مدورة صفراء. لاحظ ماندل لدى إجراء الإخصاب ما بين نباتات الجيل الأول ($RrYy \times RrYy$) ظهور أربعة أنواع من البذور: 315 بذرة مدورة صفراء و 108 بذرة مدورة خضراء و 101 مجمدة صفراء و 32 مجمدة خضراء وفق النسبة التالية: 1 : 3 : 3 : 9. تبدو هذه النسبة للوهلة الأولى غريبة، ولكن إذا ما أخذ شكل البذرة وحده فإن نسبة البذور المجمدة إلى المدورة هي ($32 + 101$) : ($315 + 108$) أو 1 : 3.2. الشيء نفسه وجد لدى دراسة صفة اللون إذ كانت نسبة البذور الخضراء إلى الصفراء ($32 + 108$) : ($315 + 101$) أو 1 : 2.9. وهي كما هو متوقع تقارب النسبة 1 : 3 في الحالتين كليتهما.

عندما درست كل صفة على حدة أعطت نتائج مشابهة لما تعطيها التصلابات ما بين اثنين من الزيجوت متخالفي الألائل. ولكن في حالة دراسة أليلين لصفيتين بعضها مع بعض وجد أن توزيعهما في الأعراس يتم بشكل عشوائي. بمعنى آخر إن احتمال توزيع الألائل المختلفة في الأعراس متعادل ما بينها. وبناءً على ذلك فقد أدرك ماندل أن والداً متخالفي الألائل يعطي أعراساً تحمل بشكل متساو أربعة أنماط جينية (ry, rY, Ry, RY). ومن ثم فإن التزاوج أو التصلاب ما بين أبوين $RrYy$ سيعطي أنماطاً ظاهرية بنسبة: 9 : 3 : 3 : 1 وأنماطاً جينية بنسبة: 4 : 2 : 2 : 2 : 1

(شكل 1-4) يدعى هذا النموذج من الوراثة بالتفاضل المستقل. تتناغم نتائج ماندل مع سلوك الانقسام الانتصافي لصبغيين لا متماثلين (Nonhomologous chromosomes). يُدعى مكان الجين على الصبغي بالموضع (Locus). يحصل التفاضل المستقل (Independent Assortment) عندما تتوضع جينتان على صبغيين مختلفين. أظهرت تصالبات ماندل ثنائية الجين أن أنماطاً جينية جديدة يمكن أن تنشأ لا تشبه أيّاً من التراكيب الجينية الموجودة لدى الوالدين. بسبب وجود الأليل السائد في الأنماط الجينية المختلفة التالية: ($RRYy, RrYY, RrYy, RRYy$) ظهور نمط ظاهري وحيد (بذور

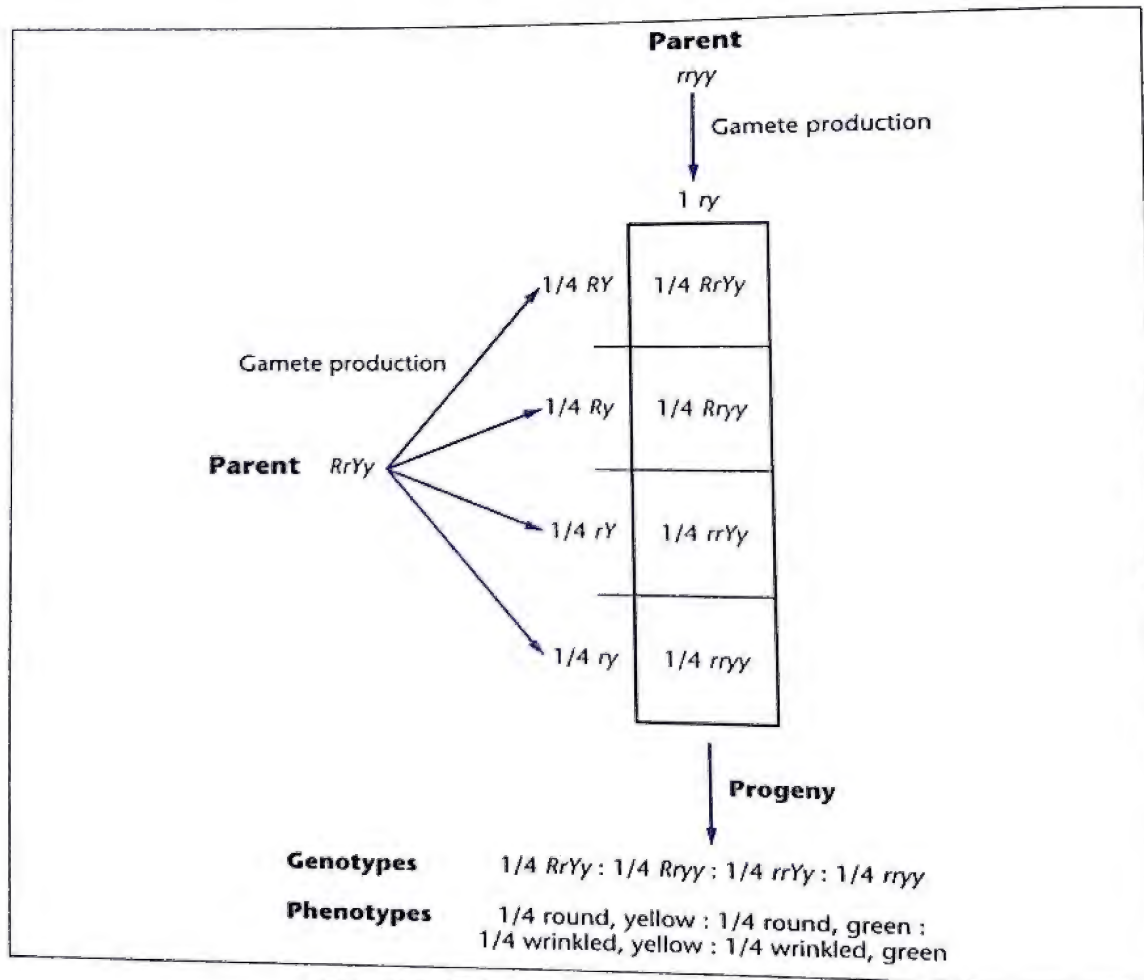
مدورة وصفراء). ينتج عن التصالب ما بين نبات ثنائي متخالف الأليل ($RrYy$) ونبات ثنائي متمثل الأليل متنج ($rryy$) أربعة أنماط جينية ومثلها من الأنماط الظاهرية بنسب $1 : 1 : 1 : 1$ (شكل 1-5) هذه النتائج متوقعة لأن الوالد ثنائي متخالف الأليل يعطي أعراساً تحمل أحد الأنماط الجينية الأربعة التالية وبنسبة متساوية إن كان عدد الأعراس كبيراً. وأما الوالد ثنائي متمثل الأليل متنج فيعطي نمطاً جينياً واحداً ضمن الأعراس. ومن ثم لوالقينا نظرة على النسل الناجم عن التزاوج ($RrYy \times rryy$) لوجدنا أن 50 % منه يملك النمط الجيني نفسه ($RrYy$) وهو مطابق للنمط الجيني الوالدي. والنصف الباقي يملك تراكيب جينية جديدة لم تكن موجودة في أي من الوالدين (شكل 1-5).



(شكل 1-4) مربع أنت يظهر نتائج التصالب ما بين نباتات $RrYy$.

يسمى في علم الوراثة التزاوج الذي يؤدي إلى ظهور أنماط ظاهرية في النسل متوافقة كل واحد منها مع أنماط جينية محددة سابقة بالتزاوج المتصالب الرجعي (Backcross mating).

أظهرت كل التصلبات التي أجراها ماندل على أزواج من الجينات (تصلبات ثنائية الجين) تفراراً مستقلاً، لذا فمن البديهي الاعتقاد أن الجينات هي وحدات كاملة منفصلة. إن توزع الجينات وانتقالها من جيل إلى الذي يليه يشبه إلى حد كبير توزع الصبغيات في الانقسام الانتصافي خلال تشكل الأعراس وهوما لم يكن معروفاً لماندل. وأما العلماء الذين أتوا بعد ماندل فقد أضحي واضحاً لديهم أن الجينات والصبغيات مرتبط أحدهما مع الآخر. كما أصبح واضحاً في نهاية القرن التاسع عشر أن عدد الصبغيات أقل بكثير من عدد الجينات. بكلمات أخرى، يحمل كل صبغي عدداً من الجينات. وبناءً على ذلك قد تتوضع بعض الجينات على الصبغي نفسه ويرتبط بعضها مع بعض بشكل خطي، وقد توارث على شكل مجموعات. أما الجينات الموجودة على صبغيات مختلفة فلن يرتبط بعضها مع بعض وسوف تتفرار بشكل مستقل. السؤال الذي لم يتطرق إليه ماندل كان: ما هو نموذج وراثة جينات مختلفة تشغل مواضع قريبة جداً بعضها من بعض على الصبغي نفسه؟



(شكل 1-5) نتائج التصلب ما بين نبات $RrYy$ ونبات $rryy$.

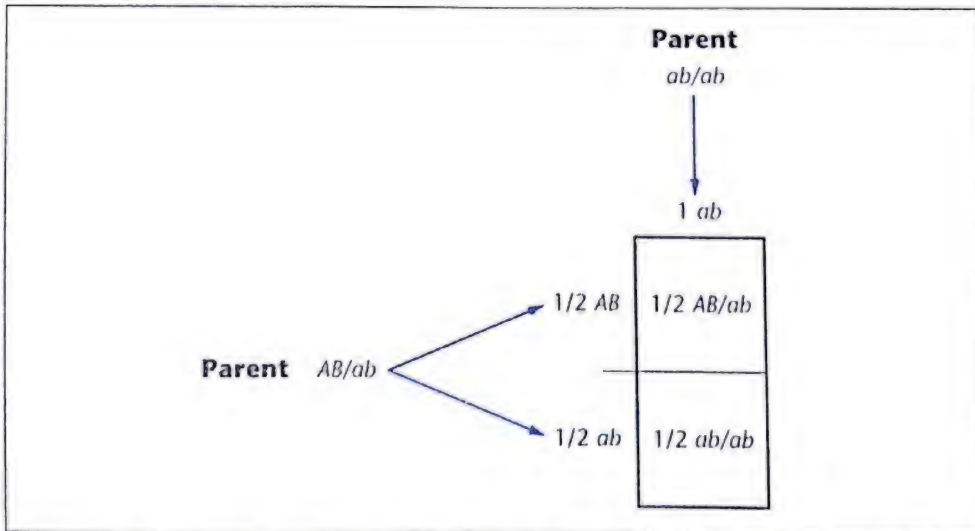
4.1. الارتباط الجيني (Genetic Linkage)

يعد تحديد الترتيب الخطي للجينات على طول الصبغي من أحد أهم الأهداف الرئيسية للدراسات الوراثية. إذا ما بقيت جينات على صبغي ما بعضها مع بعض أو بمصطلح جيني إذا ما كانت مرتبطة تماماً عندئذ ستنقل إلى الأعراس كوحدة متكاملة ودون تشكيل أي من التراكيب الجينية الجديدة خلال الانقسام الانتصافي. يُرمز للارتباط الجيني بخط مستقيم مفرد أو بخط مائل أمامي فاصلاً الجينات التي تتوضع على صبغين متماثلين وفق الشكل التالي:

$$\frac{AB}{ab}, \frac{Ab}{aB}, \frac{AB}{AB} \quad \text{or} \quad AB/ab, Ab/aB, AB/AB$$

يُقرأ المصطلح AB/ab كما يلي:

يتوضع الأليلان السائدان AB لموقعين جينيين مختلفين على الصبغي الأول، ويتوضع الأليلان المتنحيان ab في الموقعين الجينيين نفسهما ولكن على الصبغي الآخر المماثل. المقصود بكلمة المماثل هنا: الصبغي الأول الآتي من الأب والصبغي الأول الآخر الآتي من الأم. وهكذا سيعطي شخص متخالف الألائل (AB/ab) ، وفي ظل وجود ارتباط كامل، نوعين من الأعراس $(1/2 ab, 1/2 AB)$. وسينجم عن التزاوج $AB/ab \times ab/ab$ نوعان من الأنماط الجينية $(1/2 ab/ab, 1/2 AB/ab)$ بين أفراد النسل، ولن تتشكل أي تركيبات جينية جديدة (شكل 1-6).



(شكل 1-6) التراكيب الجينية المتشكلة في الأعراس وفي النسل لدى وجود ارتباط كامل ما بين الجينتين.

بينما يؤدي التزاوج ما بين ثنائي متخالف الألائل مع ثنائي متماثل الألائل المتنحي، إذ تتوضع كلتا الجينتين على صبغين غير متماثلين، إلى تشكيل 50% من التراكيب الجينية الجديدة التي لم تكن

موجودة لدى أي من الوالدين، وهو الحد الأعلى لنسبة التراكيب الجينية الجديدة، وهما يمثل التفارز المستقل. ونتيجة لما سبق قد يعطي التزاوج تراكيب جينية جديدة تتراوح ما بين 0% و 50%. نادراً ما يكون ارتباط الجين كاملاً بسبب أن حادثة التعابر بين شقي الصبغي اللامتأخيين (الصبيغيين) (Nonsister chromatids) خلال الانقسام الانتصافي تؤدي إلى خلق تراكيب جينية جديدة. مثلاً يعطي التزاوج ما بين ثنائي متخالف الأليل ($AaBb$) مع ثنائي متخالف الأليل متح ($aabb$) أربعة أنماط ظاهرية تمثل أربعة أنماط جينية من بينها اثنان من التراكيب الجينية الجديدة ($aaBb$, $Aabb$). لقد تبين في حالة التفارز المستقل ولدى تكرار التجارب أن التركيب الجيني الجديد يظهر لدى 10% من مجموع النسل، أما التركيب الجيني الوالدي فكل واحد منهما يظهر لدى 40% من مجمل النسل (جدول 1-1) ما تفسر تلك النتائج؟

Phenotype	Genotype	Frequency
AB	$AaBb$	40%
Ab	$Aabb$	10%
aB	$aaBb$	10%
ab	$aabb$	40%

(جدول 1-1) تكرارية النمط الجيني لتصلب $AaBb$ مع $aabb$.

أولاً: بما أن نسبة التركيبات الجينية الجديدة الناجمة عن تزاوج كهذا أقل من 50% فهذا يعني أن الموقعين الجينيين غير متفارزين بشكل مستقل، وبمصطلح الوراثة هاتان الجينتان مرتبطتان جينياً على الصبغي نفسه.

ثانياً: تكرارية التركيبات الجينية الجديدة أكبر من 0%، وهذا يعني أن الجينتين غير مرتبطتين بشكل كامل.

ثالثاً: مجموع تكرارات التراكيب الجينية الجديدة 20%. إن وجود نسبة من التراكيب الجينية الجديدة في نسل تزاوج ما ما هو إلا انعكاس لوجود تبادل فيزيائي بين موقعين جينيين بتكرارية معينة ما بين شقي الصبغي اللامتأخيين (Nonsister chromatids) خلال الانقسام الانتصافي.

كيف نشرح ظهور تراكيب جينية جديدة بنسبة 10% لكل تركيب، وتكرار التراكيب الجينية الوالدية بنسبة 40% لكل والد؟

يحدث، في مثالنا السابق، خلال الانقسام الانتصافي تعابر وحيد ما بين موقعين لدى الوالد ثنائي متخالف الأليل. ومن ثم يبقى اثنان من شقي الصبغي دون أن يمسهما التعابر، وآخران سيحدث فيهما تعابر

(شكل 1-7) وبعد تشكيل الأعراس يستقبل كل عرس شق صبغي واحد. وعندما يحصل في 40 من أصل 100 انقسام انتصافي تعابر وحيد بين موقعي جينتين فإن 80 عرساً (Gamete) سيستقبل شق الصبغي الحاوي على التعابر، ويسمى شق الصبغي المأشوب (Recombined chromatid) و80 عرساً سيستقبل شق الصبغي غير الحاوي على التعابر أو شق الصبغي غير المأشوب (Nonrecombined chromatid). وأما الستون انقساماً انتصافياً المتبقية فسيولد عنها 240 عرساً كلها تحمل أشقاء صبغية والدية (Parental chromatids). وعليه بإجراء عملية حسابية بسيطة يمكن معرفة نسبة الأعراس الحاملة لتراكيب جينية جديدة بقسمة تلك الحاملة لتلك التراكيب الجديدة على كامل عدد الأعراس، وفي مثالنا هذا تحسب كما يلي:

$$80 / (80 + 80 + 240) = 0.20$$

	Meiotic chromosomes	Meiotic products	
%60 Meioses with no crossover between the genes			Parental Parental Parental Parental
%40 Meioses with a crossover between the genes			Parental Recombinant Recombinant Parental

(شكل 1-7) آلية تشكيل شق الصبغي المأشوب خلال حادثة التعابر بين الموقعين A وB.

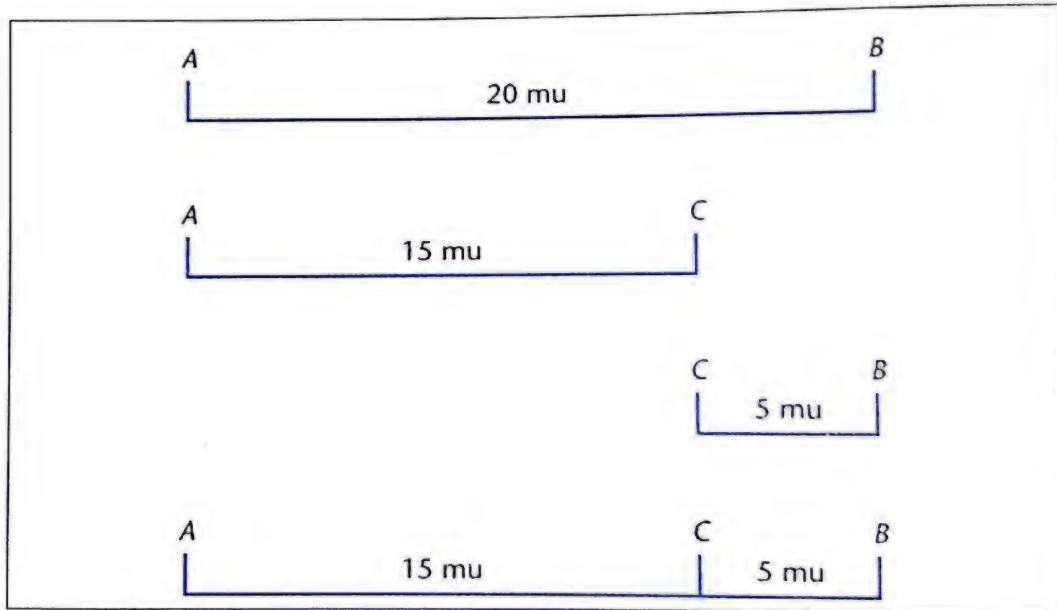
انفق اصطلاحياً على أن 1% من التأشيب تعادل 1 وحدة خريطة (Map unit: mu). وفي المثال السابق المسافة الجينية ما بين موقعي الجينتين هو 20 mu. السنتي موزغان (Centimorgan: cM) هو وحدة قياس تستعمل من أجل تحديد المسافة بين جينتين على الصبغي. يكافئ 1% تأشيب عادةً 1cM، وعندما يكون التأشيب بين موقعي جينتين أكبر من 10% فإن القياس المعطى بالسنتي موزغان يمثل قيمة إحصائية مصححة. ذلك أن نسبة التأشيب المشاهدة لا تعكس بشكل صحيح المسافة الحقيقية بين الموقعين. فمثلاً عند نسبة تأشيب تبلغ 20% تقدر المسافة على الخريطة بـ 20mu وبـ 21.2 cM. لقد أظهر التزاوج $AaBb \times aabb$ أن موقعي الجينتين متباعدتان بـ 20mu. وتشكل الأنماط الظاهرية

AB و ab الأغلبية بين مجمل الأنماط الظاهرية، وهي تمثل الصبغيات غير المؤشبة. ونتيجة لذلك يكون الترتيب الجيني للوالد ثنائي متخالف الألائل على النحو التالي: AB/ab ، والتزاوج يجب أن يمثل على النحو التالي: $AB/ab \times ab/ab$.

يدعى الشكل AB/ab بالطور المقرون (cis phase)، والشكل Ab/aB بالطور المفروق (trans phase). ويعتمد تشكل الأنماط الجينية ونوعها خلال تشكل الأعراس على شكل النمط الجيني لدى الوالد ثنائي متخالف الألائل مقروناً كان أم مفروقاً. ففي الشكل المقرون AB/ab تمثل الأعراس AB و ab الألائل غير المؤشبة، والأعراس Ab و aB الألائل المؤشبة. وعلى العكس من ذلك في الشكل المفروق Ab/aB تمثل الأعراس aB و Ab الألائل غير المؤشبة، والأعراس AB و ab الألائل المؤشبة.

5.1. إنشاء الخرائط الجينية (Constructing Genetic Maps)

قد ينجم ترتيب الجينات على طور الذراع في صبغي ما عن التصلبات المتبادلة. مثلاً إذا كان الموقع A يبعد بمقدار 20mu عن الموقع B ، والموقع C يبعد عن الموقع B بمقدار 5mu وعن الموقع A بمقدار 15mu ، عندها يمكن الاستنتاج أن الموقع C يقع بين الموقعين A و B (شكل 8-1).



(شكل 8-1) طريقة معرفة مواضع الجينات على صبغي واحد.

وبناءً على ما سبق فإن المسافة على الخريطة ما بين الموقع A والموقع B هي حسابية (جمع) ما بين المسافتين $A-C$ و $C-B$ أي $20 = 5 + 15$.

تدعى مجموعة من المواقع الجينية المرتبة بشكل خطي والمعنونة بمسافات على الخريطة بالخريطة الجينية (Genetic map). ويمكن أن يكون ترتيب المواقع الثلاثة سابقة الذكر ACB أو BCA لأننا في

هذه المرحلة المبكرة لم نحدد اتجاه الجينات على ذراع الصبغي. لا يمكن تحويل المسافة الجينية بين موقعين إلى مسافة فيزيائية أو إلى وحدات من الدنا. لكن الكثير من الدراسات على جينتين محددين في خريطة على صبغي ما أشارت إلى أن السنتي مورغان الواحد (1cM) يعادل تقريباً مليون شفع من أسس الدنا (DNA base pairs).

6.1. الألائل المتعددة (Multiple Alleles)

يمكن أن يملك نظرياً أي موقع جيني عدداً كبيراً من الألائل المختلفة. الجينات على مستوى الدنا هي تسلسل من أزواج من النوكليوتيدات (Nucleotide pairs) التي ترمز المعلومات الخاصة بمنتج تلك الجين الذي هو بروتين في معظم الحالات. يؤدي تغير واحد من أصل آلاف أزواج النوكليوتيدات إلى نشوء أليل. ولكن لأسباب عملية تصنف فقط الألائل التي تسبب تغيرات ملحوظة في النمط الظاهري الطبيعي ضمن خانة الألائل.

تُعطى الجينات البشرية رموزاً من أحرف كبيرة مائلة بحسب الـ ISGN

(International System for Human Gene Nomenclature). يعكس هذا الرمز صفة الحالة التي تتحدد بأليل الجين الطبيعي. تشير النجمة * بعد الرمز إلى وجود أليل ما للجين يجب أن يؤخذ بعين الاعتبار. تعطى الألائل أرقاماً عربية لتميز بعضها من بعض (إلا في حالات استثنائية مثل جين الزمر الدموية)، ترمز مثلاً الجين المرمزة لنازعة أمين الأدينوزين (Adenosine deaminase gene) بـ ADA^*1 و ADA^*2 .

يمثل النمط الظاهري بنفس الأحرف المستخدمة في ترميز الجينات، ولكن لا يستعمل الخط المائل في كتابته، وتستبدل النجمة بفراغ مثلاً يرمز النمط الظاهري للزيجوت متخالف الألائل ADA^*1/ADA^*2 بـ $ADA\ 1,2$.

يرمز للأمراض الوراثية مثل داء هنتنغتون (Huntington disease) وداء ألزهايمر (Alzheimer disease) والتليف الكيسي (Cystic fibrosis) بنفس الرمز المستخدم لموقع جيناتها. مع أنه من غير المؤكد فيما إذا كانت الجين الطبيعية في داء هنتنغتون مثلاً هي المسؤولة عن الحالة أو أن أليلاً آخر (أو ألائل) يجب أن يؤخذ بعين الاعتبار.

يضاف الحرف N إلى رمز الجين للدلالة على الأليل الطبيعي لهذه الجين مثل HD^*N . وأما الحرفان R و D فيشيران بالترتيب إلى أن الأليل منتج أوسائد. وعندما يتحدد منتج الجين فيستبدل رمز الجين العام بواحد أكثر دقة. كان CF في البداية رمزاً لموقع التليف الكيسي، وبعد اكتشاف البروتين المرمز من قبل الجين CF وهو $CFTR$ (Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) تغير رمز الجين إلى $CFTR$.

تعد جين الزمر الدموية ABO لدى الإنسان التي تشغل الموقع 9q34.2 واحدة من أفضل الأمثلة عن الألائل المتعددة. وتشكل الألائل ABO^*A ، ABO^*B ، ABO^*O الألائل الرئيسية المسؤولة عن الزمر الدموية: O، AB، B، A. يعد الأليلان ABO^*A ، ABO^*B أليلين سائدين بالنسبة للأليل ABO^*O ، بينما ينتج كل منهما نمطه الظاهري الخاص به لدى حضورهما معاً، يطلق على هذه الحالة السيادة المشتركة (Codominance). ينجم عن ظاهرتي السيادة والسيادة المشتركة أربعة أنماط ظاهرية ترمز من قبل ستة أنماط جينية (جدول 1-2).

Genotypes	Phenotypes
ABO^*A/ABO^*A	ABO A
ABO^*A/ABO^*B	ABO AB
ABO^*A/ABO^*O	ABO A
ABO^*B/ABO^*B	ABO B
ABO^*B/ABO^*O	ABO B
ABO^*O/ABO^*O	ABO O

(جدول 1-2) النمط الجيني والنمط الظاهري للزمر الدموية.

تختلف زمر الدم فيما بينها بسلسلة قليل السكريد (Oligosaccharide chains) المرتبطة على سطح الكرية الحمراء. يصطنع كل إنسان قليل السكريد O أو ما يسمى بالمستضد (H antigen). يرمز الأليل ABO^*A إنزيم ناقلة الغليكوزيل (Glycosyltransferase) الذي يضيف زمرة N-acetylgalactosamine إلى المستضد H ليشكل قليل السكريد ذا النمط A. يرمز الأليل ABO^*B نوع مغاير من إنزيم ناقلة الغليكوزيل (Glycosyltransferase) الذي يضيف زمرة Galactose إلى المستضد H ليشكل قليل السكريد ذا النمط B. لا يرمز الأليل ABO^*O أي بروتين يؤثر في المستضد H ل يبقى قليل السكريد ذو النمط O على حاله. يصطنع في النمط الجيني ABO^*A/ABO^*B النمطان كلاهما من إنزيم ناقلة الغليكوزيل ويتشكل كلا النمطين من قليل السكريد B و A. على مستوى الدنا يختلف أليلا ABO^*A و ABO^*B بعضهما عن بعض بأربعة أزواج من النوكليوتيدات، وأما الأليل ABO^*O فينقصه زوج من النوكليوتيدات.

7.1. الوراثة البشرية (Human Genetics)

تختلف الطرائق المستخدمة في دراسة وراثـة الخـلّات (Traits) لدى الإنسان عن تلك المستخدمة في دراسة وراثـة الخـلات في كائنات أخرى مثل: البازلاء، الذرة، القمح، ذبابة الفاكهة، الديدان المذوّرة (Roundworms).

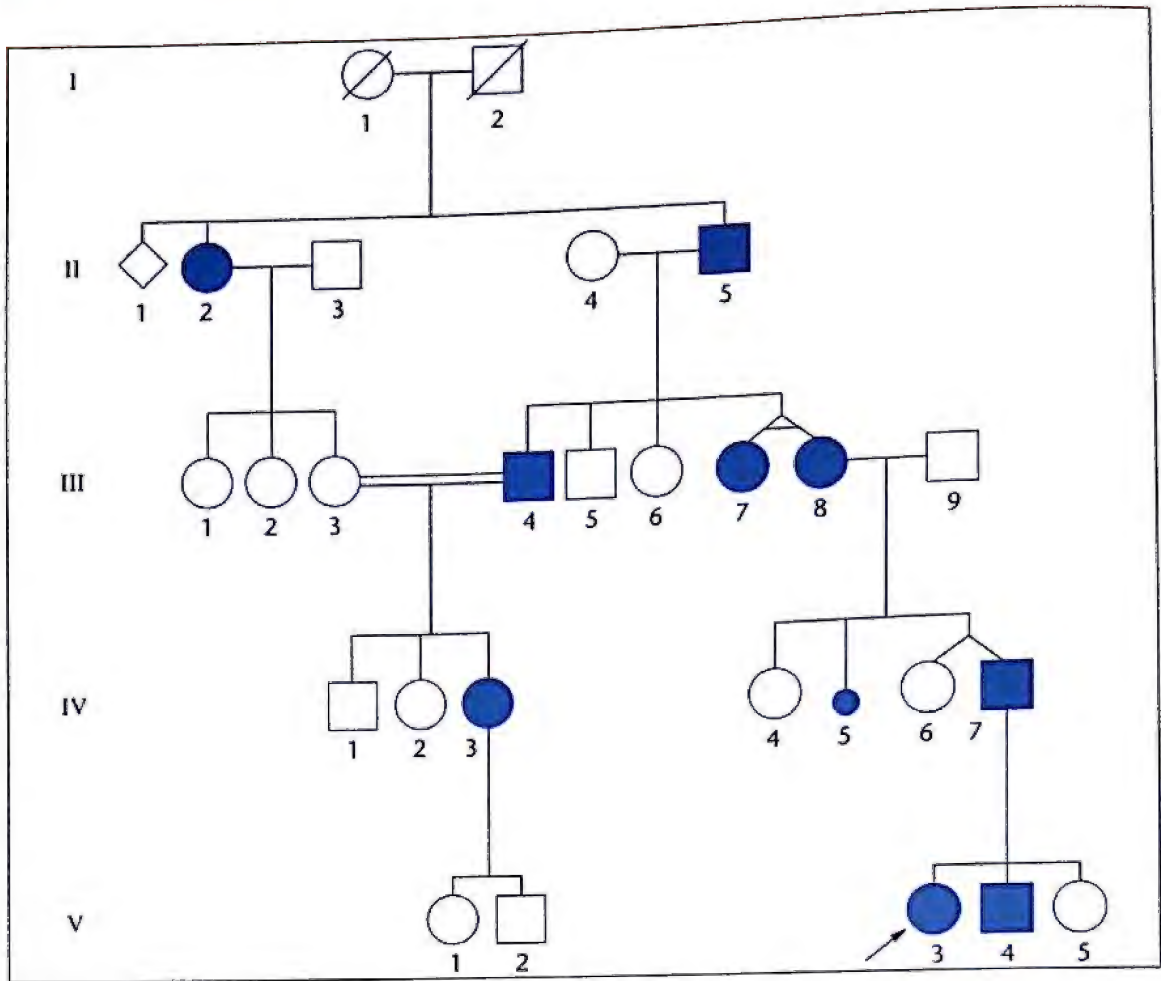
يتكون المجتمع البشري من عائلات صغيرة وأزمنة أجيال طويلة مقارنةً بالكائنات الحية المذكورة أعلاه. ومن ثم لا يمكن توقع تناسبات مائل بين أفراد ذرية من زواج واحد. ولا يجب إغفال الاعتبارات الأخلاقية والمعنوية والعملية، إذ لا يمكننا إجراء زيجات بناءً على أساس النمط الجيني للوالدين أو إجراء الزيجات بين أفراد النسل لزواج واحد.

تمكن دراسة الوراثة البشرية للخلات من خلال منظورين:

- دراسة وتحليل بيانات أعداد كبيرة من البشر: تجمع البيانات ثم تطبق عليها طرائق حسابية لاستنتاج فيما إذا كانت خلية ما موروثة. تستغرق هذه الطريقة وقتاً وقد تكون مكلفة ومملة.
- يمكن أن تدرس وراثـة خـلة ما بين الأقارب ضمن عائلات مفردة، ويفضل أن تكون العائلات كبيرة وممتدة لعدة أجيال. تعد هذه الطريقة أسهل مقارنةً بالدراسات السكانية، وتستخدم بشكل واسع هذه الأيام لدراسة الأمراض الوراثية عند الإنسان.

يمكننا مشاهدة نمط وراثـة خـلة ضمن عائلة ما عن طريق إنشاء شجرة النسب (Pedigree). مصطلح الـ Pedigree إنكليزي مشتق من الجملة الفرنسية أقدام طائر الكركي (Pied de grue).

تحتوي شجرة النسب المستخدمة في الدراسات الوراثية على مجموعة من الرموز بغية وصف العلاقة ما بين أفراد العائلة وتاريخ الصفة ضمنها، وتعدّ أشجار النسب بيانات تجريبية ضرورية لعلماء الوراثة (شكل 9-1).

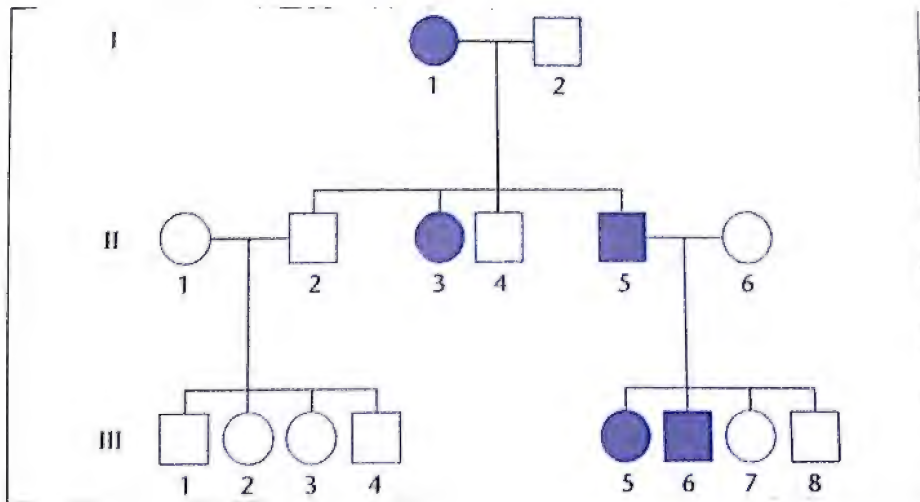


(شكل 1-9) تمثيل بياني لشجرة النسب. تشير الدائرة للأنثى، والمربع للذكر، والدائرة أو المربع الممتلئ للشخص المصاب، والأرقام اللاتينية (I، II، III...) لرقم الجيل، والأرقام العربية (1، 2، 3...) لترتيب الفرد ضمن كل جيل، والخط الأفقي ما بين ذكر وأنثى لزواج، والخط الأفقي المزدوج ما بين ذكر وأنثى لزواج قري (قرابة دم). يربط ما بين الأشقاء لوالدين خطوط أفقية ترسم أعلى الدوائر أو المربعات. يربط ما بين الخط الأفقي الممثل للعلاقة الزوجية وذاك النازل ما بين الأشقاء خط عمودي نازل. يُرتب الأفراد الأقارب ضمن الجيل الواحد بحسب ولادتهم من الأكبر حتى الأصغر، من اليسار إلى اليمين. يشير الخط المائل ضمن المربع أو الدائرة (I-1، I-2) إلى أن الشخص مات أثناء إنشاء شجرة النسب. يدل المعين إلى أن جنس الفرد غير معروف (II-1). يربط ما بين توأمي التوائم الواحدة (Monozygotic twins) خطان متشعبان، وفي أعلاهما خط أفقي (III-7، III-8). يربط ما بين توأمي التوائم (Dizygotic twins) خطان متشعبان دون أي زيادة (IV-6، IV-7). يدل الرمز الصغير على أن الفرد قد مات خلال مرحلة مبكرة من عمره أو خلال الطفولة (IV-5). تضاف أحياناً معلومات إضافية تحت كل رمز تتعلق بتاريخ الولادة أو الوفاة، والنمط الجيني. يُغفل أحياناً أحد الزوجين لتوفير المساحة لدى رسم شجرة النسب ويسبب عدم مساهمته الجينية في الدراسة، في هذه الحالة يرسم خط نازل مباشرة من الوالد البيولوجي (Biological parent) إلى الولد أو إلى الخط النازل بين الأشقاء (IV-3 إلى V-1 و V-2). يشير السهم إلى الفرد الذي بدأت من عنده الدراسة.

تساعد مجموعة مؤكدة من الصفات السريرية لنمط ظاهري بشري في تقييم الحالة إن كانت موروثية أم لا. وفي وضع أو تطوير المعالجة المناسبة لها. أما إذا كان وصف الحالة غير دقيق فإن اعتلالات وراثية وغير وراثية يمكن أن يجتمع بعضها مع بعض مما يسبب تشويشاً على التحليل والمعالجة. تحتاج بعض الدراسات إلى عدة أشجار نسب لجمع معلومات وراثية كاملة غير مشوشة، فيما تكفي أحياناً عائلة واحدة كبيرة متعددة الأجيال للقيام بالمهمة نفسها. وقد حدد الباحثون في مجال الوراثة البشرية أربعة نماذج مختلفة يمكن أن تورث فيها خلة ما محددة بموقع جيني واحد ضمن عائلة. تشمل هذه النماذج أحادية الجين (Monogenic): جسدي سائد (Autosomal dominant)، جسدي متنح (Autosomal recessive)، مرتبط بالجنس متنح (X-linked recessive)، مرتبط بالجنس سائد (X-linked dominant).

1.7.1. الوراثة الجسدية السائدة (Autosomal Dominant Inheritance)

يوجد نحو 200 حالة وراثية بشرية سببها جينات جسدية سائدة. تحدث هذه الاعتلالات الجسدية السائدة بتواترات مختلفة، ويمكن أن تؤثر في أي عضو في الجسم (جدول 1-3) يمثل (الشكل 1-10) شجرة نسب نموذجية لوراثة جسدية سائدة يظهر فيها أفراد مصابون عبر أجيال متعاقبة وبشكل متساويين الذكور والإناث. يلاحظ أيضاً أن كل فرد مصاب أحد والديه بالضرورة مصاب، والوالدان غير المصابين ليس لديهما أولاد مصابون، والفردان غير المصابين إذا ما تزوجا فمن النادر أن يولدا لهما ولد مصاب.



(الشكل 1-10) شجرة نسب نموذجية لوراثة جسدية سائدة.

(جدول 1-3) بعض الاضطرابات الجسدية السائدة لدى الإنسان.

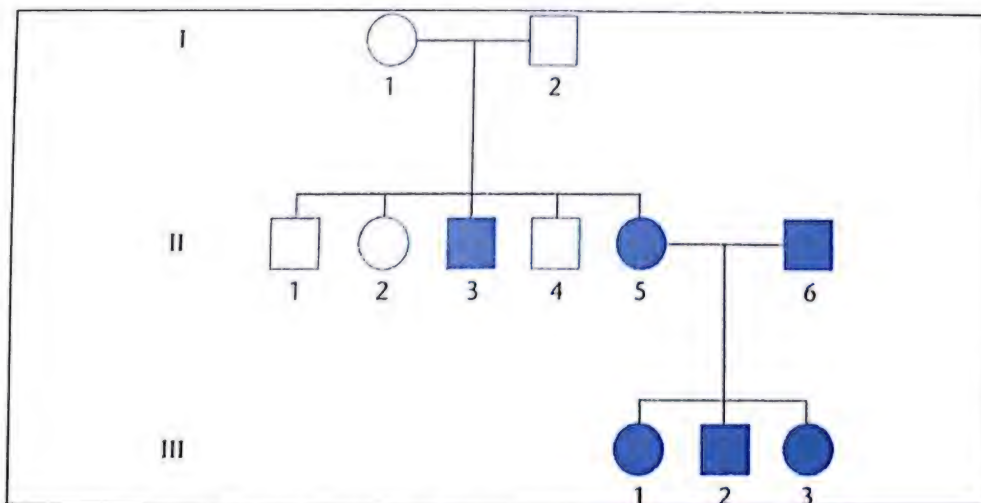
الاضطراب (Disorder)	الانتشار (Prevalence)	الوصف (Description)
داء هنتنغتون (Huntington disease)	10000 / 1	بدء متأخر (Late onset)، تنكس في قشرة المخ (cerebral cortex) والعقد القاعدية (Basal ganglia)، حركة لاإرادية (Involuntary movement) أورقص (Chorea)، خرف (Dementia).
الورام الليفي العصبي النمط الأول (Neurofibromatosis type1)	5000 / 1	أورام ليفية عصبية متعددة (Multiple neurofibromas) على أعصاب الرأس والرقبة والجسم، بقع مصطبغة (Pigmented spots) قهوة بالحليب (Café au lait).
التصلب الحدبي (Tuberous sclerosis)	5800 / 1	متعدد الأجهزة (Multisystem)، تنمواوزام عابئة (hamartomas) في الدماغ والعيون والجلد والكلى والقلب والرئتين والهيكل.
ختل التأثير العضلي (Myotonic dystrophy)	8000 / 1	متعدد الأجهزة، تقلص عضلة مطول أوتأثر العضل (Myotonia)، هزال (Wasting) وضعف عضلي متغير أوضمور (Atrophy)، ساد (Cataract)، توصيل معيب للنبيضات في القلب (defective impulse conduction by the heart)، قصور الغدد التناسلية (Hypogonadism).
داء الكلى متعددة الكيسات (Polycystic kidney disease)	1000 / 1	متغاير جينياً، تفاوت في عمر البدء، كيسات كلية (Kidney cysts)، تناقص مقدرة الكلية على التركيز، تضخم الكلية (Enlarged kidney)، فرط الضغط (Hypertension).
التهاب الشبكية الصبائي (Retinitis pigmentosa)	4000 / 1	متغاير جينياً (Genetically heterogeneous)، تناقص متدرج في الرؤية الليلية، جذة الإبصار (Visual acuity).
متلازمة مارفان (Marfan syndrome)	10000 / 1	متعدد الأجهزة، أصابع اليد والقدم طويلة أوغشكية الأصابع (Arachnodactyly)، تشوهات هيكلية، تقلل مفاصل (Loose joints)، خلع في

عدسات العين (Ocular lens dislocation)، اعتلال في الرؤية، اعتلالات قلبية وعائية، جُف (Scoliosis)، تمزق في الأبهر (Rupture of the aorta).		
ابيضاض شعر مقدمة الرأس، شيب مبكر، اختلاف في لون العينين، صمم (Deafness).	100000 / 1	متلازمة فاردينبيرغ (Waardenburg syndrome)
ارتفاع مستوى الكوليستيرول المصلي، بدء مبكر لمرض الشريان التاجي (Coronary artery disease).	500 / 1	فرط كوليستيرول الدم (Hypercholesterolemia)
متغيرات جينية، متغيرات سريرية (Clinically heterogeneous)، تشوه عظمي (Bone deformity)، عظام هشة (Brittle bones)، صمم، صلبة زرقاء (Blue sclera).	10000 / 1	تكوّن العظم الناقص (Osteogenesis imperfecta)

2.7.1. الوراثة الجسدية المتنحية (Autosomal Recessive Inheritance)

تؤثر الوراثة الجسدية المتنحية في طيف من الأعضاء في جسم الإنسان جدول 1-4. تتجم هذه الحالة من الوراثة عن عيب في أليلين في الموقع نفسه من الصبغيين.

تتميز شجرة النسب الحاوية على حالة/حالات وراثة جسدية متنحية بخلوها من إصابة لأحد الوالدين اللذين لديهم ولد مصاب، وبعدم وجود فرق بين عدد الذكور والإناث المصابين، ويظهر الإصابة لدى كل الأولاد في حال كان الوالدان مصابين. كما يمكن أن تظهر الإصابة لدى ابن لزوج أقارب (أولاد العم أو الخال) (شكل 1-11).



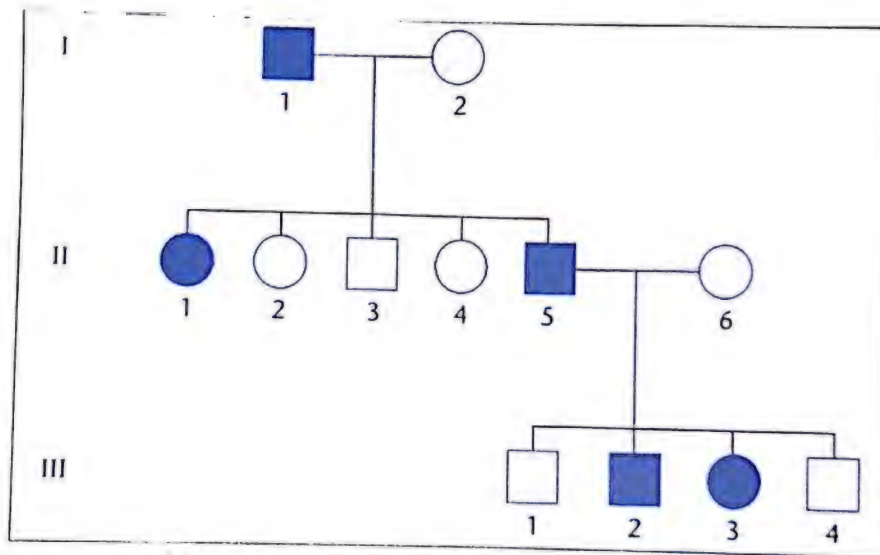
(الشكل 1-11) شجرة نسب نموذجية لوراثة جسدية متنحية.

(جدول 1-4) بعض الاضطرابات الجسدية المتنحية لدى الإنسان.

الوصف (Description)	الانتشار (Prevalence)	الاضطراب (Disorder)
متعدد الأجهزة، عيب في نقل الكلور في الأنسجة الظهارية (Epithelial tissues)، انسداد القنوات (Ductules) والمسالك الهوائية الصغيرة (Small airways)، داء رئوي وخيم، قصور معكلي (Pancreatic insufficiency)، التهاب جيوب (Sinusitis)، عقم (Infertility).	2500 / 1	تليّف كيسي (Cystic fibrosis)
اضطراب في الجلد: تشوه في المظهر، حراشف كبيرة (Large scales)، احمرار متغيرة (Variable redness).	25000 / 1	سماك صفاحي (Lamellar ichthyosis)
مرض كبدي مزمن، تراكم النحاس في الكبد والدماغ وأعضاء أخرى، اعتلال متدرج في الجهاز العصبي.	40000 / 1	تنكس ويلسون (Wilson disease)
ازدياد تكسر كريات الدم الحمراء في الطحال أو قرط نشاط الطحال (Hypersplenism)، ضخامة الكبد والطحال (Hepatosplenomegaly)، هشاشة عظام.	50000 / 1	داء غوشيه النمط الأول (Gaucher disease type 1)
يبدأ عند البلوغ (Onset at puberty)، عدم مقدرة العضلات على التنسيق للقيام بحركة إرادية وأورث (Ataxia)، عدم المقدرة على الكلام أورثة (عسر التلقظ) (Dysarthria)، ضمور عضلي (Muscle atrophy).	50000 / 1	رنج فريدرايخ (Friedreich ataxia)
متغاير جينياً، متغير، تنكس القرن الأمامي للحبل الشوكي (Degeneration of the anterior horns of the spinal cord)، هزال وضمور عضلي، مميت غالباً في سن العشرين أو ما قبل.	10000 / 1	ضمور عضلي نخاعي المنشأ طفلي (Childhood spinal muscular atrophy)
عوز في الإنزيم الكبدي فليل ألانين هيدروكسيلاز (Phenylalanine hydroxylase)، ضرر دماغي، تخلف عقلي (Mental retardation)، تراكم الفليل ألانين في الدم.	10000 / 1	بيلة الفينيل كيتون (Phenylketonuria)
نفاذ وخيم لكريات الدم الحمراء أوفقر الدم	20000 / 1	الثلاسيمية بيتا

(b-Thalassemia)		(Anemia)، ضخامة طحال، تشوهات عظمية.
عوز إنزيم الغالاكتوكيناز (Galactokinase deficiency)	40000 / 1	عدم مقدرة على تحمل الغالاكتوز، ساد، تخلف عقلي خفيف.
عوز ضد التربيسين ألفا واحد (a 1 -Antitrypsin deficiency)	3500 / 1	عُسْرُ النَّفْس (Breathlessness)، نُفَاخ (Emphysema)، تَسْمَع (Cirrhosis) الكبد.

لا يعد تفسير حالة الوراثة الجسدية الممتحية موثقاً بالاعتماد على شجرة نسب واحدة. فإذا ما كان الأليل المعيب في هذه الحالة ذا تكرارية عالية فهناك احتمال كبير لأن يتزوج فرد متماثل الألائل مصاب (إذ يكون كلا الأليلين معيبين) مع فرد متخالف الألائل (أي أليل طبيعي والآخر معاب) مما قد يخلط هذه الحالة مع حالة وراثة جسدية سائدة (شكل 1-12)، لذا فمن الأنسب لدى تفحص نمط وراثة خلة ما جمع البيانات من عائلات عدة يحملون الخلة نفسها.



(شكل 1-12) شجرة نسب لحالة وراثة جسدية سائدة كاذبة.

3.7.1. الوراثة المرتبطة بالصبغي X (X-Linked Inheritance)

تحمل نصف النطاف لدى رجل كامل الخصوبة الصبغي X فيما يحمل نصفها الثاني الصبغي Y. أما البيضة غير المخصبة فتحمل كلها الصبغي X. ومن ثم نظرياً سينجم عن التزاوج مواليد نصفهم من الإناث ونصفهم من الذكور. تعد هجرة الصبغيات المحددة للجنس خلال الانقسام الانتصافي أساسية في الحفاظ على معدل الجنس بنسبة 1 : 1 من جيل إلى آخر. وهكذا يرث كل الذكور الصبغي Y من آبائهم الذي يحمل الجين SRY (Sex determining region of the Y chromosome) في الموقع Yp11.3 الضرورية لتشكيل الخصى.

لا تتشارك الصبغيات المحددة للجنس بالمواد الصبغية فيما بينها فيما عدا عدة شذف يطلق عليها المناطق الجسدية الكاذبة (Pseudoautosomal). يحدث في هذه المناطق الجسدية الكاذبة كل من عمليتي التشابك (Synapsis) والتعابر (Crossing over) بين الصبغيين X و Y. يؤمن هذا التشابك ما بين الصبغيين X و Y هجرتهم بشكل دقيق خلال الانقسام الانتصافي.

تم تحديد موقع نحو 23 جيناً في القسم غير الجسدي الكاذب (Non-pseudoautosomal portion) من الصبغي Y. تدعى هذه الجينات بالجينات المُقْتَصِرَة على الذُكُور (Holandric genes). أما الجينات الموجودة على الصبغي X فهي معروفة بشكل جيد إذ تم تحديد أكثر من 285 جيناً تحدث فيها اضطرابات يظهر بعضها في الجدول 1-5.

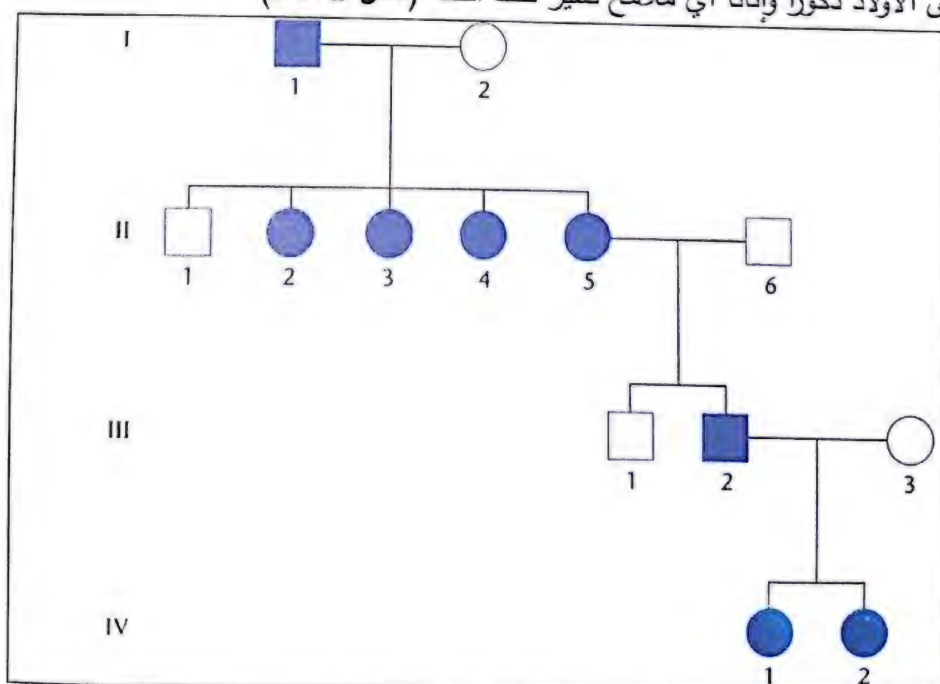
إن وجود أليل واحد مرتبط بالصبغي X كافٍ لظهور النمط الظاهري لدى الذكور بسبب وجود القليل من المعلومات الجينية المتمثلة ما بين الصبغيين X و Y. ومن ثم لا توجد فرصة حقيقية لأن يقوم أليل طبيعي سائد بتغطية تأثير الأليل المتنحي. وعلى العكس من ذلك لدى الإناث يمكن أن يتحدد تأثير الأليل إن كان سائداً أو متنحياً بحسب النمط الظاهري بسبب وجود صبغيين X. يؤدي وجود أليل سائد مرتبط بالصبغي X في شجرة نسب إلى ظهور النمط الظاهري المرتبط بوجود هذا الأليل لدى الذكور والإناث (شكل 1-13).

(جدول 1-5) بعض الاضطرابات المرتبطة بالصبغي X لدى الإنسان.

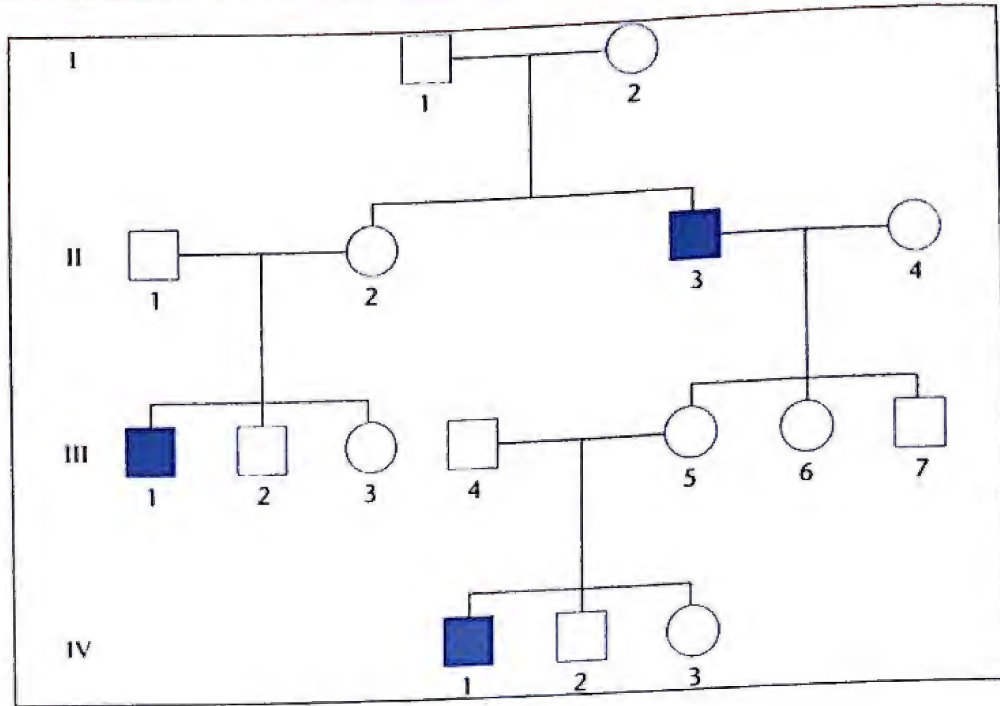
الوصف (Description)	الانتشار (Prevalence)	الاضطراب (Disorder)
بدء مبكر، ضعف عضلي متدرج، تنكس وخيم في العضلات الهيكلية.	ذكور 1 / 3500 إناث نادر	الحثل العضلي مِنْ نَظْمٍ دُوشِين (Duchenne muscular dystrophy)
تأخر عقلي، طول في الرأس، بروز في الفك والجيبة، أذنان طويلتان، تقلقل مفاصل (Loose joints)، ضخامة في الخصيتين (Macroorchidism) عند الذكر.	ذكور 1 / 1500 إناث 1 / 2500	متلازمة الصبغي X الهش (Fragile X syndrome)
بدء متغير للاعتلال، خرف متدرج، اضطرابات عقلية وعصبية، شلل تشنجي (Spastic paralysis)، قصور قشرة الكظر (Adrenocortical insufficiency).	ذكور 1 / 20000 إناث نادر جداً	حثل الكظر وبيضاض الدماغ (Adrenoleukodystrophy)
عوز في العامل الثامن لتخثر الدم (Clotting factor VIII)، نزف مفرط بسبب الرضوح	ذكور 1 / 5000 إناث نادر	النَّاعُورُ A (Hemophilia A)

(Traumas) الصغيرة، نزف داخلي.		
hypoxanthine- HGPRT عوز إنزيم (guanine phosphotransferase)، تأخر عقلي، تشنجات عضلية (Muscular spasms)، تشويه ذاتي (Self-mutilation).	ذكور 1 / 10000 إناث نادر	متلازمة ليش-نيهان (Lesch-Nyhan)
عيب في السلسلة $\alpha 5$ من الكولاجين ذي النمط الرابع، تغير سريري، تنكس متدرج في الكلى، صمم، عيوب في الرؤية.	ذكور 1 / 5000 إناث نادر	متلازمة ألبورت (Alport syndrome)
عوز في رؤية اللون الأحمر أو الأخضر أو كليهما.	ذكور 8 / 100 إناث 1 / 100	عيوب الرؤية اللونية (Color vision defects)
Steroid عوز في إنزيم الستيرويد سلفاتاز (sulfatase)، جفاف (Dryness) الجلد، منظر الجلد يشبه جلد السمكة.	ذكور 1 / 6000 إناث نادر	سماك (Ichthyosis)
عوز الفوسفات، تليين عظام، تأخر نمو، تشوهات هيكلية، عدم استجابة للمعالجة بالفيتامين D.	ذكور 1 / 20000 إناث نادر	نقص فسفات الدم (Hypophosphatemia)
عمى منذ الولادة بسبب تكاثر غير طبيعي لأنسجة الشبكية، ظهور متأخر للصمم، تخلف عقلي.	ذكور نادر إناث نادر جداً	داغ نوري (ضمور العقلة الوراثي) (Norrie disease)

وأما في حالة وجود خلية متتحة مرتبطة بالصبغي X فإننا نلاحظ في شجرة النسب أن كل الذكور لأم تحمل خلية ما يبدون النمط الظاهري المرتبط بوجود تلك الخلية. وإذا ما كان الأب يحمل تلك الخلية فلا يظهر لدى الأولاد ذكوراً وإناثاً أي ملامح تشير لتلك الخلية (شكل 1-14).



(شكل 1-13) شجرة نسب تمثل حالة وراثة خلية سائدة مرتبطة بالصبغي X.



(شكل 1-14) شجرة نسب تمثل حالة وراثة خلية متحركة مرتبطة بالصبغي X

8.1. التأثيرات البيئية Environmental influences

إن العامل النهائي الذي يحدد النمط الشكلي هو النمط الجيني الذي يتحدد عند الإلقاح، ولكن الدرجة التي يسمح فيها لهذه المقدرة الجينية الكامنة في التعبير عن نفسها تتأثر لدرجة كبيرة بالعوامل البيئية المحيطة بالمتعضية مثل درجة الحرارة ونمط التغذية. على سبيل المثال، يكون لون الفراء في أرنب الهيمالايا أبيضاً في بعض أجزاء الجسم وأسوداً في أجزاء أخرى، وقد لوحظ أن درجة الحرارة في مناطق الفراء الأبيض نحو 33 م وفي مناطق الفراء الأسود أقل من 33 م وبالتجربة تبين أن حلق الفراء الأبيض ووضع قطعة جليد مكانها يؤدي إلى نمو فراء أسود اللون مما يدل على أن جين الفراء الأسود تعبر عن نفسها عندما تكون درجة الحرارة أقل من 33 م. كما أن لون الزهرة في نبات *Hydrangea* يكون أزرق عندما ينمو في تربة حامضية ووردياً عندما ينمو النبات في تربة قلوية، مما يدل على أن أي نقص في إمداد هذه العوامل المحددة سيمنع الجين المسؤولة عن الطول أولون الزهرة من ممارسة تأثيرها الكامل، أي إن كلاً من الوراثة والبيئة يؤثران في المظهر الشكلي للخلية كما يمكن وصف التنوع الشكلي المستمر أنه المفعول التراكمي لعوامل بيئية متنوعة تفعل نمطاً جينياً قابلاً للتنوع.

في تطور صفات بشرية مثل الشخصية والذكاء والمزاج هناك دليل على أن كلاً من العوامل الجينية والبيئية هي التي تُفعل إنتاج فروق نمطية شكلية بين الأفراد، إلا أنه لا يوجد حتى الآن دليل قاطع على

وجود عامل أكثر تأثيراً من الآخر بشكل عام، لكن لا تستطيع البيئة مطلقاً زيادة مدى النمط الشكلي إلى أبعد مما هو محدد له في النمط الجيني.

9.1. الانتفاذ Penetrance والتعبّر Expressivity

لقد لوحظ أنّ هناك أفراداً يملكون الأنماط الجينية نفسها، ولكن لا يبدو النمط الظاهري نفسه، ويعتقد أن سبب ذلك يعود إلى فروق في شروط الوسط المحيط أو محيط الجينات نفسها. تسمى "مقدرة جين ما أو مجموعة جينات مسؤولة عن ظهور صفة ما على التعبير عن نفسها في نمط ظاهري بالانتفاذ. مثلاً في زيادة عدد الأصابع عند الإنسان (العنّش) Polydactyl، تنتج الحالة الطبيعية لعدد الأصابع عن وجود النمط الجيني المتنحي متمائل اللواقح (pp)، أما صفة زيادة عدد الأصابع فتعود إلى جين جسمية سائدة، ولكن لوحظ أنّ بعض الأفراد ذوي النمط الجيني (Pp) لا يُظهرون حالة الإصبع الزائدة أي أن الجين لم تنفذ لديهم. يمكن لجين ما رغم انتفاذها أن تعبر عن نفسها بدرجات مختلفة، ويدعى التعبير الناتج عن نمط جيني نافذ" باسم التعبّر. في المثال السابق يمكن أن يكون النمط الجيني السائد نافذاً في أحد اليدين أو القدمين أو في الأيدي دون الأقدام. من جهة أخرى الجينات المميّنة المتنحية قد تكون غير مميّنة عندما يكون انتفاذ وتعبّر النمط الجيني متمائل اللواقح غير تامة، وتسمى عندها الجينات تحت المميّنة Sublethal.

الفصل الثاني

الوراثة اللامندلية

Non-Mendelian Inheritance

المحتويات Contents

- | | |
|--|--|
| 1.3.2. الاختطاف التجريبي . | 1.2. الوراثة عديدة الجينات . |
| 2.3.2. قابلية الانتقال بالوراثة . | 2.2. الوراثة عديدة العوامل . |
| 3.3.2. التبني . | 1.2.2. طراز البصمة . |
| 4.3.2. التوائم . | 2.2.2. الطول . |
| 5.3.2. دراسات الارتباط الواسع للمجين . | 3.2.2. الوزن . |
| 4.2. اضطرابات المتقدرات . | 3.2. الطرق المتبعة للتحقق من الخلات متعددة العوامل . |

تبيّن لكلّ من العالمين RA Fisher و DS Falconer عام 1918 أن الكثير من الخلّات محكومة كل واحدة منها بعدة جينات. أثبتت دراسات عديدة لاحقة أن قلّة من الأمراض الوراثية لدى الإنسان تتبع قانون الوراثة المندلية أي كل خلية محكومة بجين واحد، وأن إثبات العلاقة ما بين النمط الجيني والنمط الظاهري ليس بالأمر السهل. يُطلق على الخلية التي تتحكم بظهورها جين واحد بالوراثة المندلية (Mendelian inheritance) أو الوراثة وحيّة الصبّغي (Monogenic inheritance)، وهوما درسناه في الفصل الأول من الكتاب و أفضل مثال عنها الزمر الدموية. أما الخلية التي يتحكم بظهورها عدة جينات فتدعى بالوراثة عديدة الجينات (Polygenic inheritance). يطلق على الوراثة وحيّة الصبّغي أو الوراثة عديدة الجينات اسم الوراثة عديدة العوامل (Multifactorial inheritance) إذا ما تضافرت في ظهور الخلية كلّ من العوامل الجينية والعوامل البيئية (Environmental factors).

1.2. الوراثة عديدة الجينات (Polygenic inheritance):

يُقصّد بها الخلية التي يتحكم بها الكثير من الجينات الواقعة في مواضع مختلفة دون أن تؤثر فيها العوامل البيئية. هذا النوع من الوراثة نادر جداً، مثال عنها لون العيون. هنا يكون تأثير الجينات تراكمياً وهو ما يُشار إليه أحياناً بالوراثة الكميّة (Quantitative inheritance)، حيث تسهم كل جين بجزء من ظهور الخلية. تتوضع الجين *OCA2* المسؤولة عن اصطناع الميلانين (Melanin) على الصبغي 15 (OMIM 611409)، ويسبب غيابها المهبق (Albinism). وتعطي الألائل المتنحية من الجين *OCA2* لون العيون الزرقاء في حين تعطي الألائل السائدة منها لون العيون البنية. تتوضع على الصبغي 15 وبالقرب من الجين *OCA2* جين آخرى تؤثر في تعبيرها تدعى *HERC2*. تعيق الألائل المتنحية للجين *HERC2* تأثير الجين *OCA2* مما يؤدي إلى ظهور العيون الزرقاء (شكل 2 - 1).

OCA2

No gene // No gene = Albinism



Recessive // Recessive =



Dominant // Recessive =
or
Dominant // Dominant =



+ HERC2 Recessive // Recessive =



(شكل 2-1): تؤثر جينتان على الأقل في لون العيون هما OCA2 و HERC2. تتوضع هاتان الجينتان بعضها قرب بعض على الصبغي الخامس عشر.

2.2. الوراثة عديدة العوامل (Multifactorial inheritance):

يطلق على هذا النوع من الوراثة أحياناً بالوراثة المعقدة، ولكن تعدّ تسمية الوراثة عديدة العوامل أكثر دقة. تستخدم عبارة الوراثة عديدة العوامل في أغلب الأحيان لوصف حالات تتحكم بها عدة جينات بالإضافة لتأثير العوامل البيئية. ليست الجينات في هذا النوع من الوراثة بالأكثر تعقيداً من الجينات الأخرى، لا بل تتبع كل جين من الجينات قوانين ماندل في الوراثة. والفرق هو تضافر عدة جينات بعضها مع بعض بالإضافة للعوامل البيئية لإعطاء نمط ظاهري معين مع غياب لملامح السيادة والتحتي. للتوضيح نذكر سرطان الرئة (Lung cancer) الذي تتضافر في ظهوره جينات مع العوامل البيئية. ويفرض أن شخصاً لديه العوامل الجينية المؤهبة لظهور السرطان ولكنه ليس بمدخن ويستنشق الهواء النقي طوال حياته فإنه من النادر أن يظهر لديه سرطان الرئة. تكون تأثيرات الجينات هنا تراكمية أيضاً، إذ تسهم كل جين بجزء من النمط الظاهري النهائي، وهذه المساهمة ليست بالضرورة أن تكون متساوية. ومثال على ذلك حالة السكّري من النمط الثاني (Type II diabetes) إذ تسهم بضع جينات بشكل كبير في تطور المرض أما باقي الجينات فتكون مساهمتها ضئيلة. وفي مثال آخر عن الشقيقة أو ما يسمى بالصداع النصفي (Migraine)، تسهم جين تقع على الصبغي الأول في الحساسية تجاه الصوت (Sensitivity to sound) في حين أن جين آخر تقع على الصبغي الخامس تؤدي إلى الصداع النابض (Pulsating headache)، وفي الحساسية تجاه الضوء (Sensitivity to light)، وهناك جين ثالثة على الصبغي الثامن تؤدي إلى الغثيان والإقياء (Nausea and vomiting).

وهناك خَلَّات أخرى تخضع لنمط الوراثة عَدِيدَة العَوَامِل مثل الطول ولون الجلد والوزن والخَلَّات السلوكيَّة (Behavioral traits) والكثير من الأمراض. يمكن أن تكون الخَلَّة ذات نمط ظاهري محدد، وتُسمى منقطعة (Discontinuous) مثل الداء السكري من النمط الثاني. وقد لا تُعَبَّر عدة جينات تتحكم بخَلَّة واحدة عن نمط ظاهريٍّ مميز، وإنما تُعَبَّر عن تدرجات مختلفة من النمط الظاهري وهو ما يطلق عليه مسمى التنوع المتواصل للنمط الظاهري (Continuously varying phenotype) مثال عنها طِرَاز البَصْمَة والطول والذكاء. تكون نسبة حدوث الخَلَّات متعددة العوامل المنقطعة في العائلات المصابة أعلى منها عادةً مقارنةً بالمجتمع السكاني، وتتدنى نسبة حدوثها كلما أصبحت القرابة بعيدةً بين أفراد العائلة لتصل إلى مستويات قريبةٍ من نسبة حدوثها لدى السكان.

1.2.2. طِرَازُ البَصْمَة (Fingerprint pattern):

ما يحدد طِرَازُ البَصْمَة هوانثناءات الجلد على أطراف الأصابع في أنماط بارزة تُدعى بحُرُوف جِلْدِيَّة (Dermal ridges). ترتصف هذه الحروف لتشكل عُرى (Loops) أو دَوَارَات (Whorls) أو أقواسٍ (Arches). تُستخدم تقنية دراسة تَقَاطِيعِ النِّهَائِيَّاتِ (Dermatoglyphics) المحددة لطِرَازِ البَصْمَة في مقارنة وتمييز الأفراد بعضهم من بعض وفي التحاليل الطَّبِيَّة الشَّرْعِيَّة (Forensic analysis). تتحكم الجينات بشكلٍ كبير في عدد الحروف في البصمة وقد تشاركها العوامل البيئية في ذلك. تتغير البصمة أثناء الحمل (بين الأسابيع 6 و13)، وذلك بسبب ملاسة أصابع الجنين للكيس السَّلَوِيّ (Amniotic sac). وهوما يفسر عدم تطابق البصمة بين التَّوَمِيْنِ المُتَمَازِلِيْن (Identical twins) رغم تطابق جيناتها تطابقاً كاملاً.

2.2.2. الطول (Height):

يبدو تأثير العوامل البيئية في وراثة الطول أكثر وضوحاً. فالأفراد الذين لا يتغذون بشكلٍ جيد لا يصلون إلى قاماتٍ طويلةٍ رغم امتلاكهم للعوامل الجينية المؤهبة لذلك. لدى إجراء مقارنة بين أفراد جيلين الأول عاش في 1920 والثاني في أيامنا فقد وُجد أن متوسط الطول كان 150 سم في جيل 1920 و 165 سم في الجيل الآخر. وهذا يعود إلى تحسن الشروط الصحية ونوعية الغذاء. يُذكر هنا أن نحو 50 جين تتحكم بخَلَّة الطول.

3.2.2. الوزن (Weight):

يُعد وزن الجسم من الخَلَّات متعددة العوامل التي تتحكم فيها جينات عدة تؤثر في الشهية (appetites) وعوامل بيئية تتعلق بكمية الطعام ونوعيته إضافة إلى النشاط الفيزيائي للفرد والحالة النفسية، ويُظهر (الجدول 1-2) البروتينات المصنَّعة في الجسم التي تؤثر في الشهية.

Protein	OMIM	Effect on Appetite
Leptin	164160	↓
Leptin transporter	601694	↓
Leptin receptor	601007	↓
Neuropeptide Y	162640	↑
Melanocortin-4 receptor	155541	↓
Ghrelin	605353	↑
PYY	660781	↓
Stearoyl-CoA desaturase-1	604031	↑

(الجدول 2-1): البروتينات المصنعة في الجسم التي تزيد (↑) أو تنقص (↓) من الشهية، والرمز الخاص بهذه البروتينات لمن أراد المزيد من المعلومات يمكنه البحث عنها في موقع OMIM على الشبكة.

3.2 . الطرق المتبعة للتحقق من الخَلّات متعددة العوامل

(Methods to Investigate Multifactorial Traits)

يحتاج إثبات خضوع الصفات إلى الوراثة متعددة العوامل إلى اتباع إستراتيجيات مغايرة مثل الاختطار التجريبي ودراسات التوافق عند التوائم ودراسات الترابط العائلي.

1.3.2 . الاختطار التجريبي (Empiric Risk):

الاختطار التجريبي ليس بالحساب الرياضي وإنما إحصاء يعتمد على ملاحظات علماء الوراثة (Geneticists) لتوقع نسبة حدوث خلة متعددة العوامل لدى شخص ما. يشير مصطلح مُعدّل الوقوع (Incidence rate) إلى عدد الحالات الجديدة من الاضطرابات المُشخصة المُسجلة كل عام في مجتمع سكاني ذي حجم معلوم. ويشير مصطلح مُعدّل الانتشار (Prevalence rate) إلى عدد الأفراد ضمن مجتمع سكاني الذين يملكون اضطراباً ما خلال فترة محددة من الزمن. يزداد الاختطار التجريبي كلما ازدادت القرابة بين الأفراد ضمن العائلة الواحدة، كما بيّنت دراسة أجريت حول الشفة المشقوقة (Cleft lip) (جدول 2-2).

يُعمل بالاختطار التجريبي لدى دراسة الاضطرابات متعددة العوامل التي تفتقر للمعلومات حول سبب حدوثها أو طريقة انتقالها أو التي تصيب أحد الجنسين أكثر من الآخر. مثل تضيق البواب (Pyloric stenosis) الذي يصيب الذكور بمعدل خمس مرات أكثر من الإناث.

Relationship to Affected Person	Empiric Risk of Recurrence
Identical twin	40.0%
Sibling	4.1%
Child	3.5%
Niece/nephew	0.8%
First cousin	0.3%
General population risk (no affected relatives)	0.1%

(جدول 2-2): الاختطار التجريبي لظهور شفة مشقوقة لدى أقارب وفي المجتمع السكاني. توعمان متماثلان (Identical twin)، شقيق (Sibling)، طفل (Child)، بنات وأبناء الأخ والأخوات (Niece/nephew)، أولاد عم درجة أولى (First cousin).

2.3.2. قابلية الانتقال بالوراثة (Heritability)

قابلية الانتقال بالوراثة تعني تقدير نسبة تنوع النمط الظاهري لخلّة ما بسبب اختلافات جينية، وذلك في مجتمع سكاني ما ضمن فترة زمنية محددة. تختلف قابلية الانتقال بالوراثة عن الاختطار التجريبي أنها تركز على الاختلافات الجينية كسبب للتنوع بينما الاختطار قد ينجم عن تأثيرات بيئية. يُعزى التنوع الجيني في الخلّة متعددة الجينات في معظم الحالات إلى تراكم تأثير ألائل متحيزة لجينات مختلفة. وقد تؤثر ثلّة من الألائل السائدة في النمط الظاهري لبعض الخلّات، ولكن بسبب ندرة هذه الألائل السائدة فإنها لا تسهم بشكل كبير في قابلية الانتقال بالوراثة. يمكن أن تتأثر قابلية الانتقال بالوراثة بالروكبة (Epistasis)، ويُقصد بها التفاعل ما بين ألائل لجينات مختلفة. لا يعد تحديد قابلية الانتقال بالوراثة من المهام سهلة المتابعة لدى الإنسان بسبب صعوبة تثبيت وتحديد تأثير العوامل البيئية. وتغدو هذه المهمة أسهل لدى النباتات والحيوانات بسبب القدرة على تثبيت الشروط البيئية وتحييدها. ولتحديد فيما إذا كانت العوامل الجينية وحدها دون البيئية هي من يسهم في تنوع خلّات ما درست حالات التبنّي والتوائم.

3.3.2. التبني (Adoption):

يشارك الشخص المُتبنّى العوامل البيئية دون الجينية مع العائلة المُتبنيّة. فيما يشارك الشخص المُتبنّى العوامل الجينية دون البيئية مع الوالدين البيولوجيين (Biological parents). يُقصد بالوالدين البيولوجيين الأب الذي أتت منه النطفة والأم صاحبة البويضة غير المخصّبة. يفترض علماء الوراثة أن التشابه الملاحظ إذا ما وجد بين الشخص المُتبنّى والعائلة المُتبنيّة مرده إلى العوامل البيئية، وأن التشابه الملاحظ إذا ما وجد بين الشخص المُتبنّى والوالدين البيولوجيين مرده إلى العوامل الجينية. أجريت دراسة على الوالدين البيولوجيين والوالدين المُتبنيين (Adoptive parents) والأولاد المُتبنيين (Adopted children) لمعرفة مدى تأثير كل من العوامل الجينية والبيئية. تناولت الدراسة الموت قبل سن الخمسين بسبب أمراض خمجية (Infectious disease) أو بسبب أمراض قلبية وعائية (cardiovascular disease). لوحظ أن موت الوالدين البيولوجيين قبل سن الخمسين لأسباب خمجية يزيد من معدل موت الأولاد المُتبنيين قبل سن الخمسين بخمس مرات مقارنةً مع المجتمع السكاني. هنا يظهر جلياً مدى تأثير العوامل الجينية، والتفسير هو وجود تغيرات في جينات الجهاز المناعي تجعل هؤلاء الأفراد أكثر استعداداً (Susceptibility) للإصابة بالأخماج. لوحظ أيضاً أن موت الوالدين المُتبنيين قبل سن الخمسين بأمراض قلبية وعائية يزيد من معدل موت الأولاد المُتبنيين قبل سن الخمسين بثلاث مرات مقارنةً مع المجتمع السكاني. هنا يظهر جلياً مدى تأثير العوامل البيئية.

4.3.2. التوائم (Twins):

التوائم نوعان متماثلة (Identical twins) أو أخوان (Fraternal Twins). تنشأ التوائم المتماثلة عن زيجوت واحدة انقسمت إلى مضغتين، لذا تُسمى وحيدة الزيجوت (monozygotics) واختصاراً MZ. فيما ينشأ التوائم الأخوان عن لاقحتين مختلفتين نتيجة تلقيح بويضتين بنطفتين، لذا تُسمى ثنائية الزيجوت (Dizygotics) واختصاراً DZ. تكون التوائم أحادية الزيجوت متماثلة جينياً، أما التوائم ثنائية الزيجوت فتشارك بنصف جيناتها، وبالتالي يكون التويمان من الناحية الوراثة متشابهين تشابه الأخوة والأخوات. يزداد معدل حدوث التوامة ثنائية الزيجوت مع زيادة عمر الأم ومع زيادة عدد مرات الحمل وقصة حدوث توامة في العائلة، كما أنها قد تترافق مع النساء الطويلات ذوات البنى الضخمة.

درس علماء الوراثة معدلات التوائم (Concordance rates) والخلات المشتركة. وقد لوحظ أنه في حال كانت الخلة محكومةً بجين واحد فإن نسبة ظهورها عند التوائم المتماثلة تبلغ 100% إذا ما كانت سائدة، وينخفض معدل ظهورها إلى 50% بين التوائم الأخوة، وهو ما يحاكي الوراثة المندلية. أما إذا ما كانت الخلة محكومةً بعدة جينات فإن معدلاتها بين التوائم المتماثلة أعلى بشكل واضح من ذلك المشاهد بين التوائم الأخوة (جدول 2-3). أظهرت دراسة أخرى أجريت على توائم متماثلة تم الفصل بينهم منذ الولادة لأسباب، مختلفة أن معدلات التوائم كانت عالية بالرغم من الظروف المختلفة التي عاشها كل من

التوأمين وهو ما يؤكد الأثر الجيني الكبير مقارنةً بالبيئي. تم في هذه الدراسة مقاييسات عدة لمعالم حيوية في الدم ومقارنة متباينات (Parameters) فيزيائية ونفسية مختلفة ما بين التوائم.

Trait	MZ (Identical) Twins	DZ (Fraternal) Twins
Acne	14%	14%
Alzheimer disease	78%	39%
Anorexia nervosa	55%	7%
Autism	90%	4.5%
Bipolar disorder	33-80%	0-8%
Cleft lip with or without cleft palate	40%	3-6%
Hypertension	62%	48%
Schizophrenia	40-50%	10%

(جدول 2-3): معدلات التوائم ما بين التوائم بالنسبة لبعض الخلايا المدروسة. عُدَّ أَوْحَبُ الشَّبَاب (Acne)، فَقَدْ الشَّهِيَّةُ الغَصَابِي أَوْقَهَمَ غَصَابِي (Anorexia nervosa)، ذَاتِيَّةُ (Autism)، اضْطِرَابُ ذَوَاتَجَاهَيْن (Bipolar disorder)، الشَّقَّةُ المَشْقُوقَةُ بِدُونِ حَنَكٍ مَشْقُوقٍ (Cleft lip with or without cleft palate)، فَرْطُ ضَغْطِ الدَّمِ (Hypertension)، انْفِصَامُ عَقْلِي أَوْفَصَام (Schizophrenia).

5.3.2. دراسات الارتباط الواسع للمجين (Genome-Wide Association Studies)

إن دراسة الارتباط الواسع للمجين واختصارها GWAS هي طريقة جديدة لتحليل الخلايا. تعتمد هذه الطريقة على مقارنة واصمات جينية (Genetic markers) في كامل المجين، وذلك بين مجموعتين كبيرتين من الأفراد، الأولى لديها خلّة محددة أو مرض ما، والثانية خالية من تلك الخلّة أو المرض. أما الواصمات الجينية فهي:

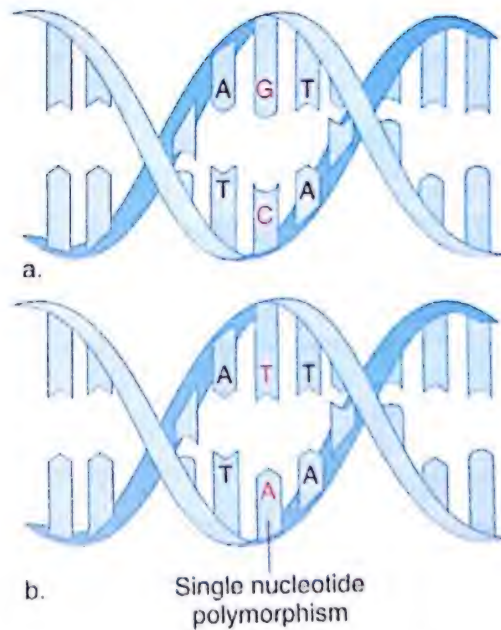
- التعدد الشكلي وحيد النوكليوتيد (Single nucleotide polymorphism) واختصاراً SNP هو تغيّر في شفع واحد من الأسس ضمن تسلسل ما، وهذا التغيّر موجود لدى 1% على الأقل من السكان (شكل 2-2). يُجرى سلسلة (Sequencing) لكامل المجين لكلّ من مجموعة أسوياء ومجموعة أفراد لديهم الاعتلال نفسه لاكتشاف SNPs. تقارن بعدها SNPs المكتشفة بين المجموعتين، وتحدد تلك المشتركة ما بين الأفراد المرضى. فقد يكون أحد هذه SNPs أو بضعة منها على علاقة بالاعتلال، أو أنها قريبة من الجين أو الجينات المسؤولة عن الاعتلال والتي يطلق عليها اسم الجينات المرشحة (Candidate genes). أجريت دراسة على مجموعة من سكان جزر Solomon الاستوائية لمعرفة سبب ظهور الشعر الأشقر عند بعض السكان (شكل 2-2).

(3-). تمت مقارنة 43 شخصاً يملك شعراً أشقر و42 آخرين يملكون شعراً أسود. وُجد أن نوي الشعر الأشقر يملكون SNP على الصبغي التاسع ضمن جين تُدعى *TYRP1* (tyrosine-related protein 1). ويتحكم منتج هذه الجين بالميلانين ومن ثم تؤدي الطفرة في هذه الجين إلى أحد أنواع المهق (Albinism).

- تغيرات في عدد نسخ (Copy number variants) واختصاراً CNVs هو تسلسل من الدنا يتكرر لعدد متباين من المرات بين الأفراد المختلفين (شكل 2-4).
- التعبير الجيني (Gene expression)، وذلك لمعرفة فيما إذا كانت زيادة أو نقص التعبير عن جينات معينة لدى الأفراد هو المسؤول عن ظهور الخلّة أو الإصابة بالمرض. يرتبط مفهوم التعبير الجيني مع التبدّل بالتخلّق المتوالي (Epigenetic change) الذي يؤثر في التعبير الجيني دون المساس بتسلسل الدنا.



(شكل 2-3): يُعزى الشعر الأشقر عند بعض سكان جزر Solomon إلى تغيّر في شفع أسس واحد في إحدى الجينات.



(شكل 2-2): التعدد الشكلي وحيد النوكليوتيد (SNP).

GATTACA	Allele 1
GATTACAGATTACA	Allele 2
GATTACAGATTACAGATTACA	Allele 3
GATTACAGATTACAGATTACAGATTACA	Allele 4

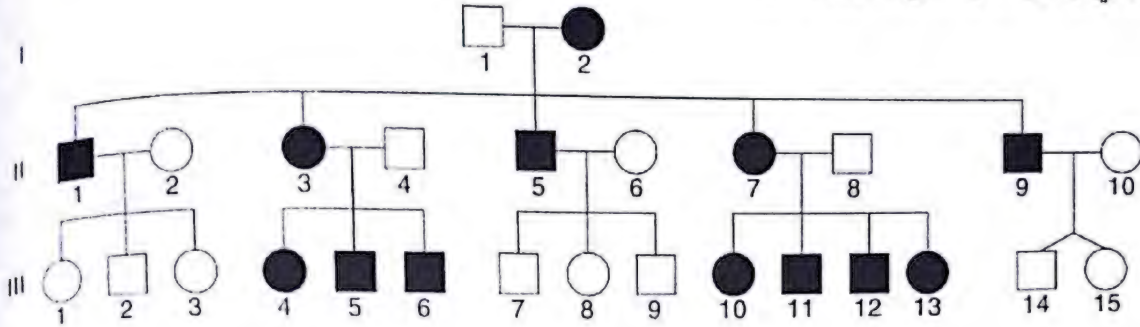
(شكل 2-4): تغيّر في عدد نسخ التسلسل GATTACA بين عدة ألائل.

4.2. اضطرابات الميتوكوندريات (Mitochondrial disorders)

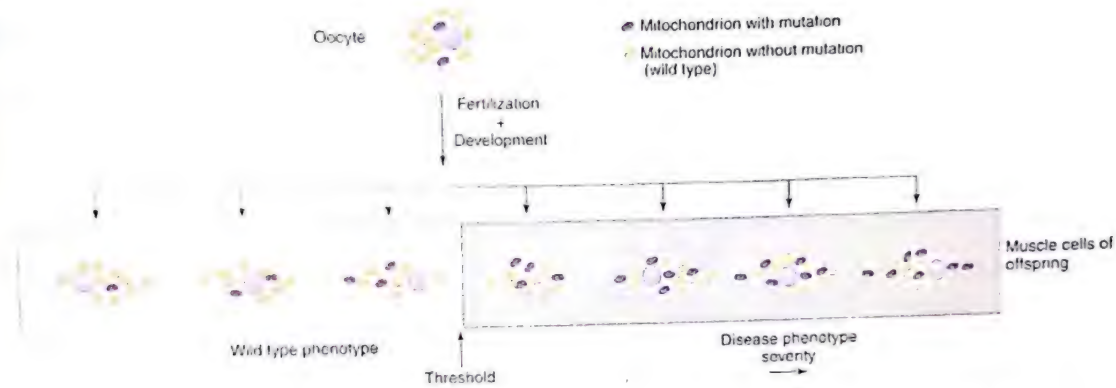
اشتق اسم الميتوكوندريات (mitochondria) ومفردتها مُتَقَدَّرَة (Mitochondrion) من كلمتين إغريقيتين (Mito)، وتعني خيطاً، و (chondrion)، وتعني حبيبية. توجد مئات من الميتوكوندريات في هيولى كل خلية، وتملك كل متقدرة من 2 - 10 صبغيات حلقيّة. تُورث الميتوكوندريات وصبغياتها جميعاً من الأم ومن ثم فإن اضطرابات الميتوكوندريات بسبب طفرات في صبغياتها تبدي طرازاً خاصاً للتوريث إذ يتم الانتقال لجميع الأولاد عن طريق الأم المصابة، ولا يوجد أي خطورة على نسل الرجل المصاب (شكل 2-5).

تحتوي الخلية البَيَضِيَّة (oocyte) نحو 100000 متقدرة، وعند نضجها ينخفض العدد ليتراوح بين 10 - 100 متقدرة بألية سُميت بالاختناق الجيني (Genetic bottleneck). تسهم هذه الآلية بإزالة الكثير من الميتوكوندريات الحاوية على تشوهات بنيوية في المجين المتقدري. يتضاعف عدد الميتوكوندريات خلال الأيام الأولى لانقسام الخلايا المُضغِيَّة (Embryonic cells) ليصل إلى 10000 أو أكثر في كل خلية. تتوزع الميتوكوندريات بشكل عشوائي خلال التَخَلُّق (Embryogenesis) وتشكيل الأنسجة الجنينية في الرحم. إذا ما حدث أن حملت إحدى الميتوكوندريات طفرة ما في مجينها، فإن المصادفة وحدها هي من ستحدد جهة توزّع هذه الميتوكوندريات في الخلايا البنات الناتجة وفي الأنسجة. بكلام آخر قد ترث بعض الخلايا عدداً قليلاً أو أكثر من الميتوكوندريات الحاملة للطفرة ومن الميتوكوندريات الحاملة للمجين المتقدري الطبيعي، وقد لا ترث الخلايا إلا الميتوكوندريات الحاملة للمجين المتقدري الطبيعي. ومن ثم إذا ما كانت الغلبة للميتوكوندريات الطافرة على الطبيعية في بعض الأنسجة التي تحتاج في عملها إلى مستويات عالية من الطاقة تتطلب فيها عدداً كبيراً من الميتوكوندريات مثل أنسجة العضلات والدماغ والكبد والقلب، فإن تأثير الطفرة إن كانت تؤثر في إنتاج الطاقة، سيظهر بشكل جلي على وظائف تلك الأنسجة (شكل 2-6). يُدعى معدل الدنا المتقدري الطافر إلى معدل الدنا المتقدري الطبيعي بحمل الطفرة المتقدري (Mitochondrial mutation load). يصف مصطلح الهيولى المِثْلِيَّة (Homoplasmy) الخلايا التي تحتوي الميتوكوندريات فيها على المجين نفسه، أي إما كلها متقدريات سليمة وإما متقدريات حاوية على مجين فيه الطفرة نفسها. ويشير مصطلح الهيولى

المتغايرة (Heteroplasmy) إلى الخلايا التي بها نوعان من المتقدرات جزء منها حاو على المجين الطبيعي وآخر حاو على مجين طافر.



(شكل 2-5): يمثل الوراثة المتعلقة بالمتقدرات. ينتقل المجين المتقدري من الأم إلى كل أولادها. لا ينتقل الاعتلال المتعلق بالمتقدرات من الأب المصاب إلى أولاده.



(شكل 2-6): بعد أن يحدث الإلقاح للخلية البيضية ذات الهيولى المتغايرة وبعد الانقسامات المتتالية ستنتقل المتقدرات ويشكل عشوائي إلى الخلايا. إذا غلبت نسبة المتقدرات الطبيعية (Wild type) فلن يظهر المرض وسيكون النمط الظاهري طبيعياً (Wild type phenotype). وسيظهر المرض إذا تجاوزت نسبة المتقدرات الطافرة عتبة ما (Threshold) بحسب النسيج الموجودة فيه. وستزداد وخامة المرض كلما زادت نسبة المتقدرات الطافرة في خلايا النسيج.

تم التعرف حتى الآن على نحو 59 طفرة في المجين المتقدري مرتبطة باعتلالات نادرة، إذ تبلغ تكراريتها واحد من كل 10000 من المواليد الأحياء. نذكر منها على سبيل المثال الاعتلال العضلي (Myopathy) واعتلال عضلة القلب (Cardiomyopathy) والصمم (Deafness) والعمى (Blindness).

ترتبط وخامة المرض (Severity of illness) المتعلق باعتلالات المتقدرات بعدة عوامل:

- نوع الجين الطافرة، ومكان الطفرة.
- كيفية توزع المتقدرات الطافرة بين الأنسجة خلال مراحل الانقسام المبكرة للتطور الجنيني.

- جمل الطفرة المتقدري في نسيج ما اللازم لظهور الأعراض السريرية.
وبما أن الخلايا يمكن أن تضم نسباً متفاوتة من الدنا المتقدري السليم والطافر بعد الانقسامات الخلوية المتلاحقة خلال المرحلة الجنينية لذا سيتنوع النمط الظاهري ضمن أفراد العائلة الواحدة.
نذكر من اعتلالات المرتبطة بطفرات في مجين الممتقدرات:

- اعتلال الصرع الرَّمْعِيَّ العَضَلِيَّ والألياف الحمراء الممزقة
(Myoclonus Epilepsy and Ragged Red Fibers)

ينجم اعتلال الصرع الرَّمْعِيَّ العَضَلِيَّ والألياف الحمراء الممزقة، ويُرمز له اختصاراً MERRF عن طفرة نقطية في الجين المُرْمَزَة للرنا الناقل للحمض الأميني الليزين (RNA^{Lys}) مما يؤدي على المستوى الكيميائي الحيوي إلى عوز في إنزيمات السلسلة التنفسية. يتظاهر اعتلال MERRF بالصرع الرَّمْعِيَّ العَضَلِيَّ وعدم تنسيق الحركة أو الرنح (ataxia) وفقد خلايا العضلات أو الاعتلال العَضَلِيَّ (myopathy)، وتتكس في الأعصاب النُّعَاجِيَّة (Degeneration of spinal nerves) وغيرها من الأعراض.

- اعتلال العصب البصري لِ لِيبر (Leber optic neuropathy) يرمز له اختصاراً بـ LHON.
- الاعتلال العصبي المترافق مع الرنح والنُّهَابُ الشَّبَكِيَّة الصَّبَاغِيَّ (Ataxia، Neuropathy ، and Retinitis Pigmentosa) يرمز له اختصاراً بـ NARP.
- الاعتلال الدِمَاغِيَّ المتقدري المترافق مع الحُمَاض اللَّاكتِيكِيَّ ونوبات سكتة دماغية (Mitochondrial Encephalomyopathy with Lactic Acidosis and Stroke like Episodes)، يرمز له اختصاراً بـ MELAS.

الفصل الثالث

المادة الوراثية والصبغيات

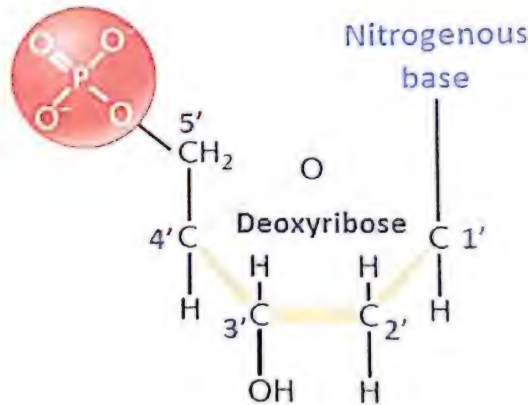
Genetic Material and Chromosomes

المحتويات Contents

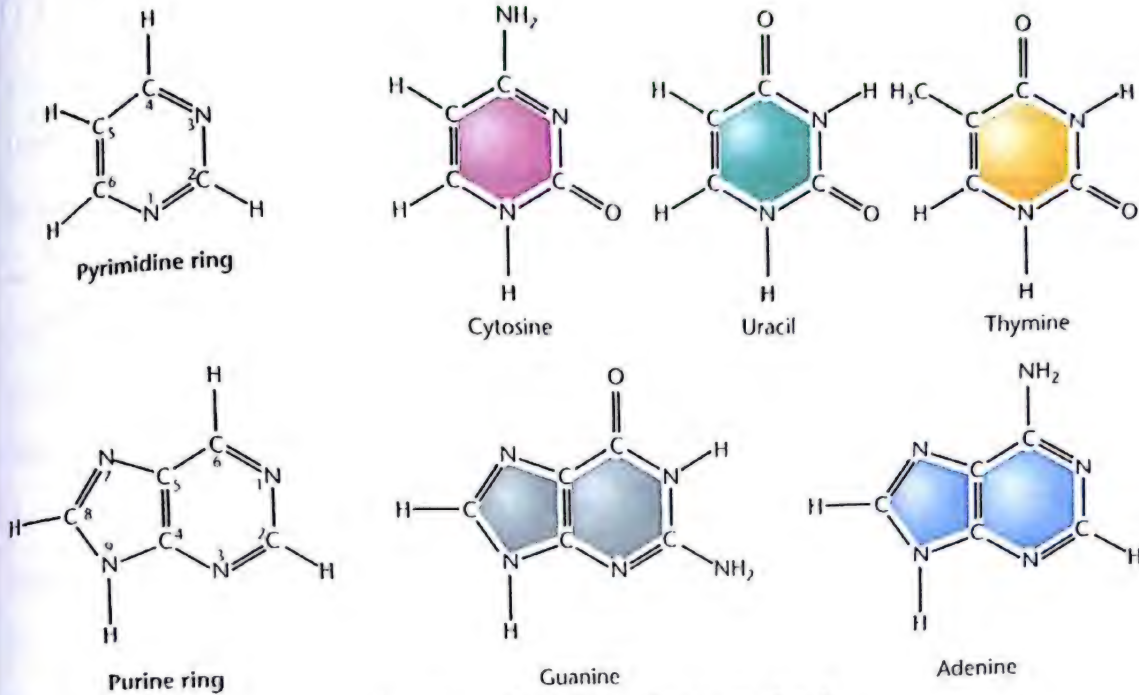
- | | |
|------------------------------|--------------------------------------|
| 1.3. بنية الدنا | 2.3.3. الحفاظ على عدد الصبغيات |
| 2.3. هندسة المجين البشري | 3.3.3. تمييز الصبغيات لدى الإنسان |
| 3.3. الصبغيات والنظام الجيني | 1.3.3.3. تلوين الصبغيات |
| 1.3.3. بنية الصبغيات البشرية | 2.3.3.3. التسمية الاصطلاحية للصبغيات |

1.3. بنية الدنا (Structure of DNA)

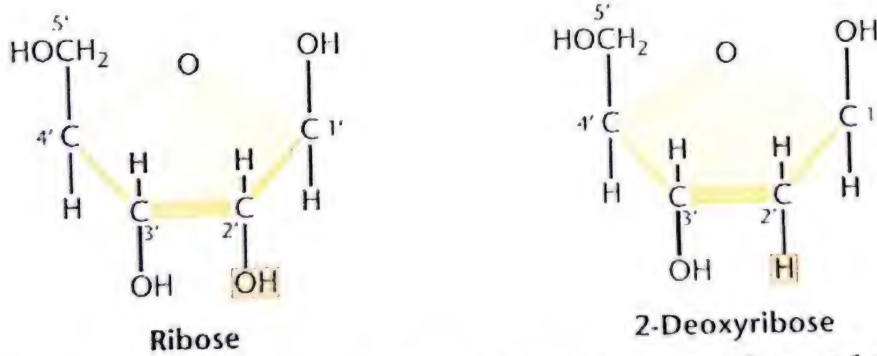
بدأت دراسة كيمياء الحمض النووي الريبى المنزوع الأكسجين (Deoxyribonucleic acid) اختصاراً (DNA) منذ نهايات القرن التاسع عشر، واستمرت حتى أصبح معروفاً في الأربعينيات من القرن العشرين أن الدنا مكون من وحدات مستقلة تدعى النوكليوتيدات (Nucleotides). يتألف كل نوكليوتيد من أساس آزوتي (Nitrogenous base) وسكر خماسي ذرات الكربون (Pentose) وزمرة فوسفات (Phosphorus group) (شكل 3-1). يوجد أربعة أنواع من الأسس الآزوتية في بنية الدنا ثلاثة منها مشتركة ما بين الدنا والحمض النووي الريبى (Ribonucleic acid) اختصاراً (RNA) هي: الأدينين (Adenine) والغوانين (Guanine) والسيتوزين (Cytosine)، ويستبدل الثيمين (Thymine) باليوراسيل (Uracil) في بنية الرنا. تُوزع هذه الأسس الآزوتية الخمسة إلى مجموعتين، بناءً على بنيتها الكيميائية، هما البورينات (Purines) والبيريميدينات (Pyrimidines) (شكل 3-2). أما السكر الخماسي الموجود في الدنا فهو الريبوز منزوع الأكسجين (2'-deoxyribose) الذي يملك زمرة هيدروكسيل [OH] واحدة على الكربون 3' مقارنةً بالسكر الخماسي الريبوز (Ribose) الموجود في بنية الرنا الذي يملك زمرتي هيدروكسيل على الكربونين 2' و 3' (شكل 3-3).



(شكل 3-1) البنية الكيميائية العامة للنوكليوتيد. تُوضع الفتحة على أرقام ذرات الكربون في بنية السكر لتمييزها من الأرقام في الأساس الآزوتي.

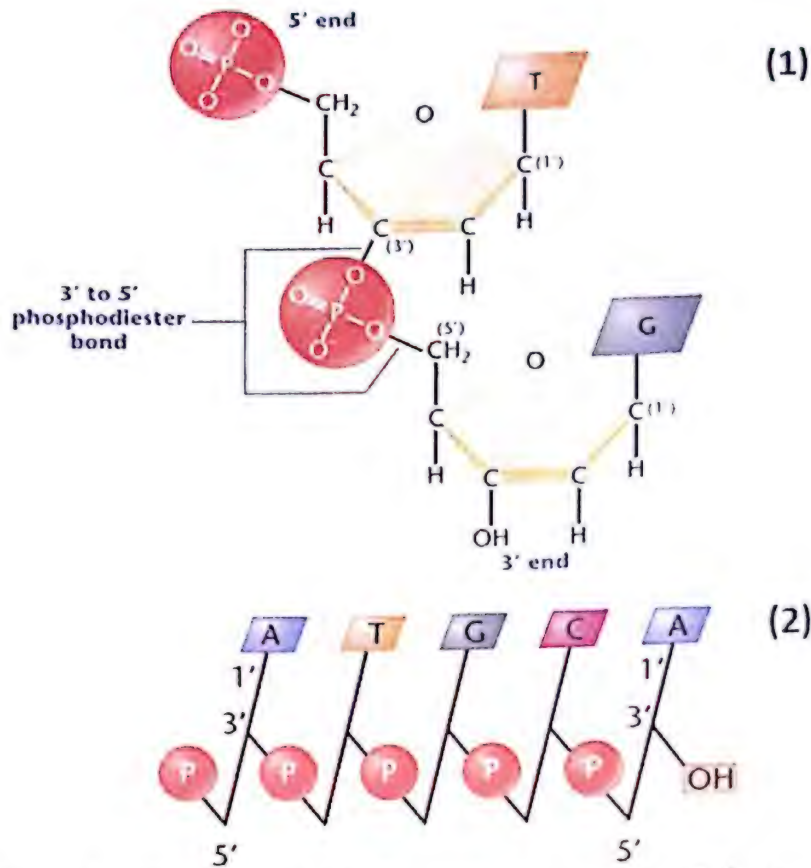


(شكل 2-3): البنية الكيميائية للأسس الآزوتية.



(شكل 3-3): البنية الكيميائية لسكر الريبوز منزوع الأوكسجين الموجود في بنية الدنا وسكر الريبوز الموجود في بنية الرنا.

ترتبط النوكليوتيدات بعضها مع بعض بواسطة روابط فسفودايستر مشكّلة سلسلة طويلة (Phosphodiester bonds). إذ ترتبط زمرة الفوسفات المتوضعة على الكربون 5' من النوكليوتيد التالي مع زمرة الهيدروكسيل المتوضعة على الكربون 3' من النوكليوتيد الأول. يملك الطاق المتشكل من عدة نوكليوتيدات (Polynucleotide strand) نهايتين: الأولى هيدروكسيلية عند النهاية 3' (3'-end) والثانية فوسفاتية عند النهاية 5' (5'-end) (شكل 3-4).



(شكل 3-4): تشكّل رابطة فسفودايستر بين نوكلّيوتيدين. (2) البنية الكيميائية لطاق مفرد من الدنا. A: اختصار الأدينين، T: اختصار الثيمين، G: اختصار الغوانين، C: اختصار السيٹوزين.

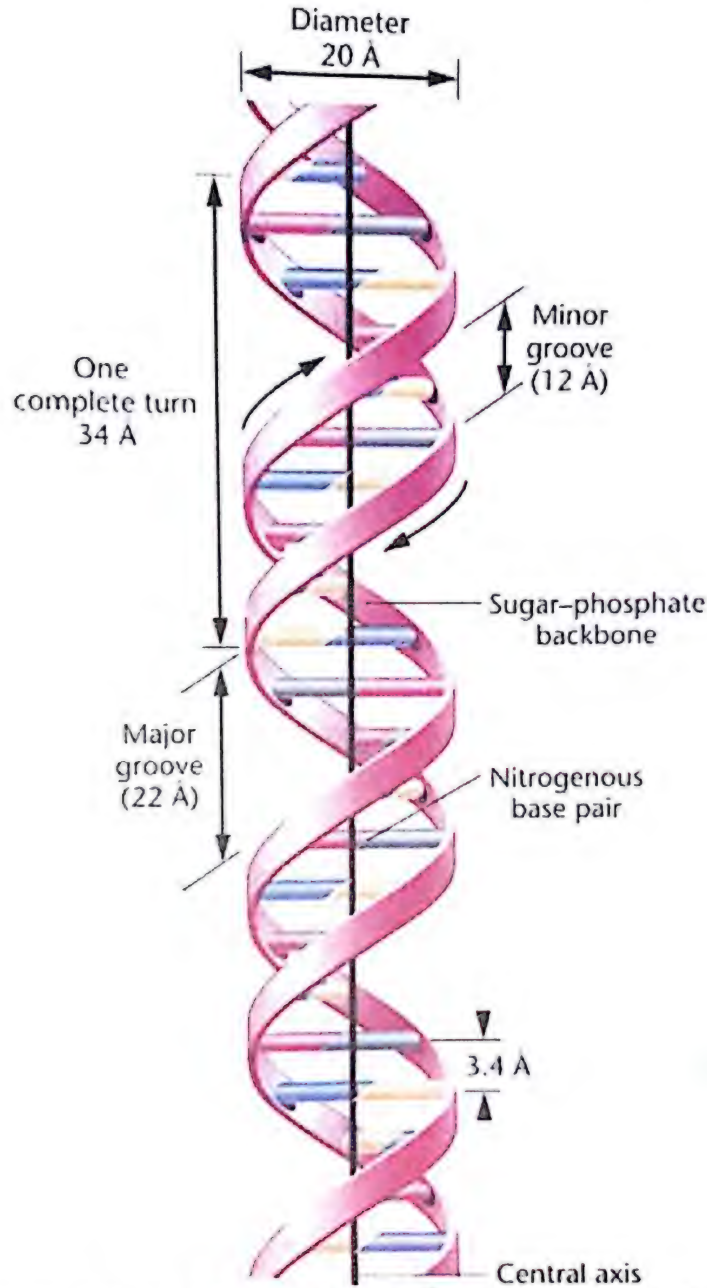
اكتشف كلٌّ من الباحثين James Watson و Francis Crick في عام 1953 بتطبيق تحليل انعراج الأشعة X على الدنا المبلور (Crystallized DNA) أن الدنا يأخذ شكل حلزون ثنائي الطاق عكسي التوازي (Antiparallel - Double-stranded helix) شكل (3-5).

ترتبط سلسلتا عديد النوكليوتيد بعضها مع بعض بواسطة روابط هيدروجينية (Hydrogen bonds) تتشكل بين الأسس الآزوتية الموجودة في الطاقين المتعاكسين. تتشكل الروابط الهيدروجينية في مواقع محددة وما بين أسس بعينها؛ إذ يرتبط الأدينين (A) مع الثيمين (T) برابطتين هيدروجينيتين، ويرتبط السيٹوزين (C) مع الغوانين (G) بثلاث روابط هيدروجينية (شكل 3-6). تتوضع أزواج الأسس (AT) و (CG) إلى الداخل في جزيئة الدنا، بينما تتشكل الرابطة ما بين الفوسفات والسكر الخماسي منقوص الأوكسجين بالاتجاه 5' - 3' العمود الفقري لكل طاق. يتقابل طاقى الدنا بشكل عكسي التوازي (Antiparallel)، إذ تأخذ السلسلة الأولى الاتجاه 5' - 3'، وتأخذ السلسلة الثانية الاتجاه 3' - 5' (شكل 3-6).

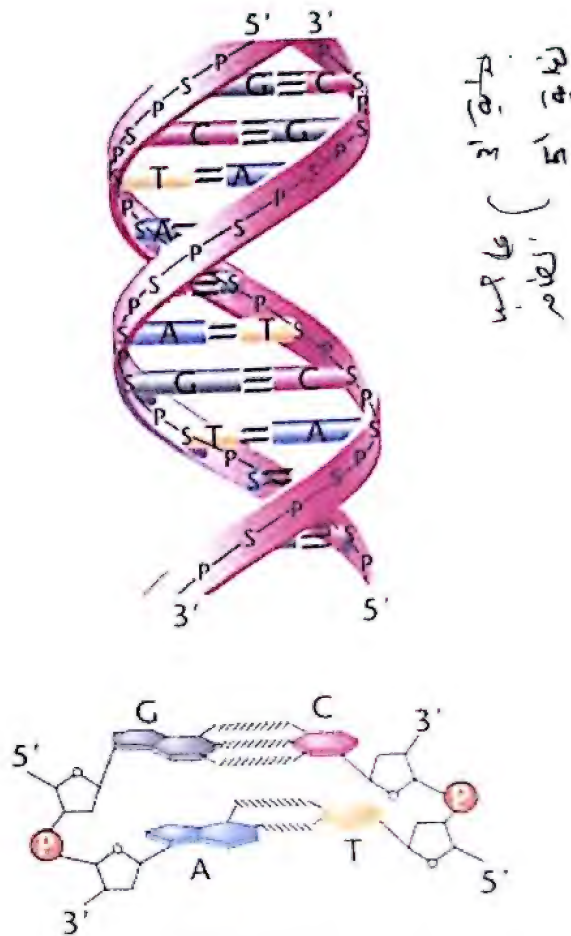
اتفق اصطلاحياً عندما يكتب تسلسل الدنا بشكلٍ أفقي أن نكتب النهاية 5' للطاق العلوي على يسار الجزيئة والنهاية 3' على يمين الجزيئة، والعكس بالنسبة للطاق السفلي. مثال عن ذلك التسلسل التالي:

5'-TAGGCAT-3'

3'-ATCCGTA-5'



(شكل 3-5): بنية الدنا الحلزوني ثنائي الطاق. يمثّل طاقاً هيكل الدنا المؤلف من ارتباط ما بين السكر والفوسفات (Sugar-phosphate backbone). تُمثّل الأعمدة الأفقية إلى الداخل الأسس الآزوتية (Nitrogenous base pairs) التي يرتبط بعضها ببعض بروابط هيدروجينية (Hydrogen bonds). يبلغ طول اللفة الكاملة 34 أنغستروم، وتحدث اللفة كل 10 أشعاع من الأسس الآزوتية. يتشكّل نتيجة التفاف طاق الدنا ما يُسمى بالثلم الكبير (Major groove) والثلم الصغير (Minor groove).



(شكل 3-6): يبين الشكل صفة عكسي التوازي (Antiparallel) لجزيئة الدنا. نلاحظ ارتباط الأدينين (A) مع الثيمين (T) برابطتين هيدروجينيتين، والسيتوزين (C) مع الغوانين (G) بثلاث روابط هيدروجينية.

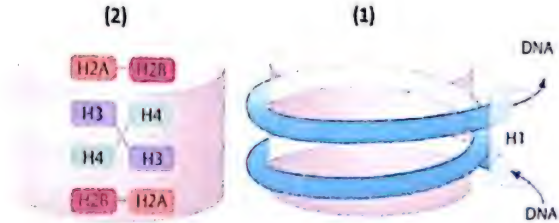
تستعمل أزواج الأسس المتتامة (Complementary base pairs) وهي الأدينين مع الثيمين (AT) والسيتوزين مع الغوانين (CG) لتحديد طول جزيئة الدنا التي تقاس بوحد شفع من الأسس (Base pair) ويرمز لها اختصاراً بـ bp. ومن مضاعفات هذه الواحدة كيلوأساس (Kilo base) وهو ألف زوج من الأسس، ويرمز له اختصاراً Kb والميغا أساس (Mega base)، وهو مليون زوج من الأسس، ويرمز له اختصاراً Mb. يبلغ طول الصبغي الأول البشري مثلاً نحو 263 Mb.

2.3. هندسة المجين البشري

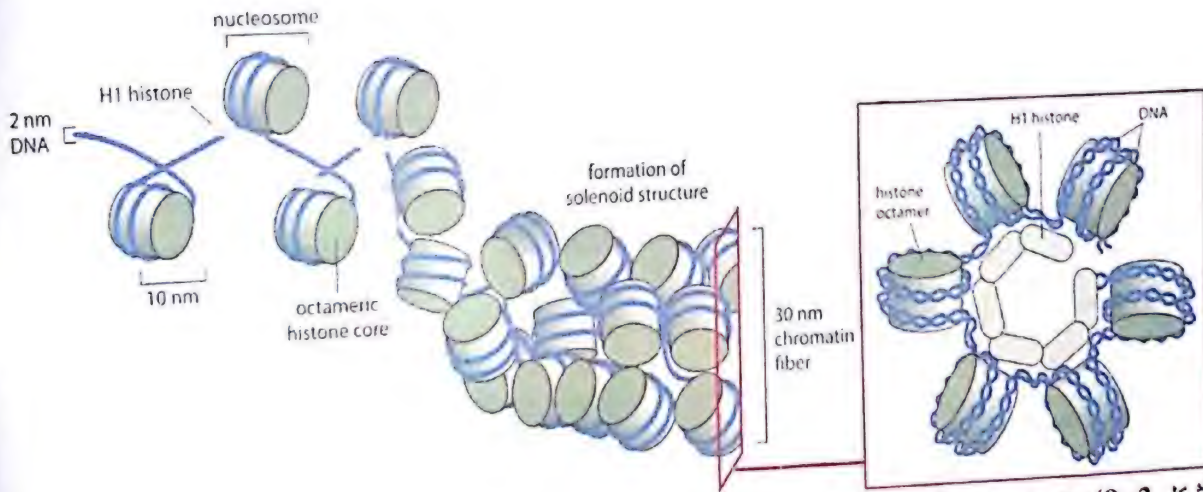
يأخذ المجين لدى حقيقيات النوى، ومنها الإنسان، بنيةً عالية الانضغاط والتنظيم. يساعده على ذلك الكثير من البروتينات. تسمى البنية المؤلفة من الدنا مع البروتين بالكروماتين (Chromatin). يلتف نحو 147 شفعاً من الأسس في الدنا حول نواة مؤلفة من بروتينات الهيستون مشكلاً بذلك الوحدة الأساسية

المؤدية لانضغاط المجين. يطلق على هذه الوحدة اسم النيكليوزوم (Nucleosome). تتألف نواة الهيستون البروتينية من اجتماع أربع مثويات من كل من الهيستونات H2A و H2B و H3 و H4 شكل (7-3).

(شكل 7-3): (1) بنية النيكليوزوم إذ يلتف الدنا حول نواة بروتينية هستونية. (2) تتألف هذه النواة من ثماني موحودات هي: $(H2A)_2$ و $(H2B)_2$ و $(H3)_2$ و $(H4)_2$.



تتدلى نهايات أمينية من الهيستونات خارج النيكليوزوم فيها أحماض أمينية معينة تخضع لتفاعلات الكيميائية مثل الأسيلة (Acetylation)، أو الفسفرة (Phosphorylation)، أو الميثيلة (Methylation)، وكلها لها مساهماتها الكبيرة في التعبير الجيني. تتكدس النيكليوزومات بعضها فوق بعض بمساعدة الهيستون H1 لتشكل ليف الكروماتين (Chromatin fiber) الذي يبدو إذا ما أخذنا مقطعاً فيه كملف لولبي (Solenoid) شكل (8-3).



(شكل 8-3): إلى اليسار تكّس النيكليوزومات بعضها فوق بعض وتشكيلها للليف الكروماتين. إلى اليمين بنية الملف اللولبي.

3.3. الصبغيات والنظام الجيني (The Genetic System Chromosomes)

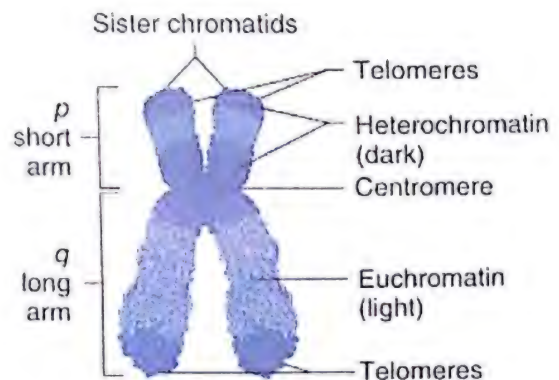
الصبغيات بنى خيطية مجهرية رفيعة تكمن في نواة الخلية حقيقية النواة (Eukaryotic cell)، وتحمل معظم المعلومات الوراثية في الكائن الحي. وصف Flemming في عام 1882 حركة الصبغيات خلال الدورة الخلوية. وفي عام 1888 أطلق Waldeyer كلمة صبغي على البنى الملونة وهي مشتقة من كلمتين في اللغة الاغريقية Chroma معناها اللون، و Soma معناها الجسم.

تنتج الكائنات الحية المتكاثرية بالجنس (Sexually reproducing organisms) أعراساً (Gametes) تملك نسخة واحدة من الصبغيات (Haploid)، ويعود الفضل في ذلك الاختزال للانقسام الانتصافي (Meiosis). تتأمن الاستمرارية البيولوجية من جيل بشري إلى آخر بواسطة الاندماج ما بين نطفة (Sperm) آتية من الأب مع بيضة غير مخصبة (Unfertilized egg) آتية من الأم مما يشكل الزيجوت (Zygote). تمر الزيجوت بعد انغراسها في الرحم بسلسلة من الانقسامات الخلوية ليتشكل بعد أشهر تسعة فرد كامل مكون من عدد كبير من الأنماط الخلوية، والأنسجة، والأعضاء المختلفة. تتميز هذه العملية التوالدية بتعقيدها الكبير، وبحاجتها إلى التناغم ما بين الكثير من التفاعلات الكيميائية الحيوية والخلوية والنسجية. يؤدي النظام الوراثي، ممثلاً بالصبغيات وما يحمله من جينات، دوراً حاسماً في العملية التوالدية.

1.3.3. بنية الصبغيات البشرية (Human Chromosome Structure)

يتألف الصبغي بشكل أساسي من DNA وبروتين وقليل من الـ RNA. يحوي كل صبغي على ثلاث مناطق مهمة تضمن له بقاءه وتضاعفه هي: القسم المركزي (Centromere) والقسمان الطرفيان (Telomeres) وأماكن لتتسخ الدنا (Origin of replication sites) شكل (3-9).

(شكل 3-9): صورة للصبغي في الطور التالي وهو مكون من شقين الصبغي المتأخين (Sister chromatids).

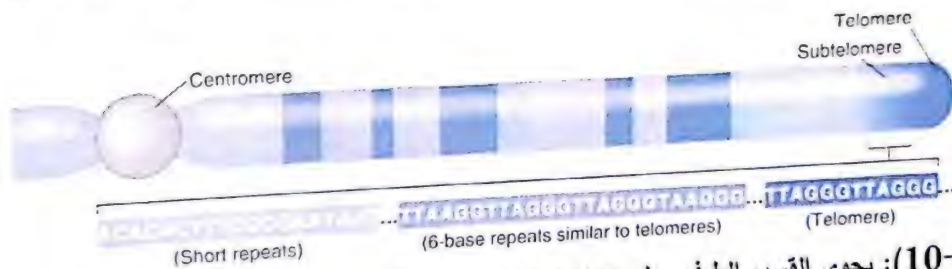


تكمن أهمية القسم المركزي في ربطه لمعزل الانقسام التقلبي (Mitotic spindle) بواسطة بروتينات الحيز الحركي (Kinetochores) المتوضعة عليه خلال الانقسام الخلوي. يبقى شق الصبغي

المُتَآخِيَانِ ملتصقين ببعضهما البعض في منطقة القُسَيْمِ المَرْكَزِيّ حتى طور الصعود في الانقسام الخلوي حين يفترقان. يبلغ طول القُسَيْمِ المَرْكَزِيّ عند الإنسان عدة ملايين من أشفَاع الأَسْس. ويتكوّن بشكل رئيسي من α -satellite DNA وهو عبارة عن تكرار لنسخ من الدنا يبلغ حجم الواحدة منها 171bp. تتوضع بروتينات CENP (Centromere-binding protein) بشكلٍ نوعي على α -satellite، وتؤدي دوراً مهماً أثناء تضاعف الصبغيات خلال الانقسام الخلوي.

القُسَيْمِ الطَّرْفِيّ معقّد من دنا مُغاير وبروتين. يكثر فيه، لدى الإنسان، تكرار بشكلٍ ترادفيٍّ للتسلسل TTAGGG، يمتد التكرار على منطقة طولها نحو 10 - 15 kb. يُسمى البروتين المرتبط مع القسم الطرفي بـ Telosome، وهو مؤلف من الكثير من البروتينات من أهمها TRF1 و TRF2 (Telomere repeat binding factor) اللذان يرتبطان مع وحدات TTAGGG. ويصبح القسم الطَّرْفِيّ أقصر بعد كل دورة انقسام خلوي في معظم أنماط الخلايا.

تُدعى المنطقة الممتدة ما بين القسم الطرفي والمناطق الغنية بالجينات بتحت القسم الطرفي (Subtelomeres). تحوي هذه المنطقة على بعض الجينات المُرمّزة للبروتينات، إذ يبلغ تعدادها 500 جين على الأقل في كل مناطق تحت القسم الطرفي في الصبغيات كلها (شكل 3-10).



(شكل 3-10): يحوي القسم الطرفي على تكرارات تمتد إلى منطقة ما تحت القسم الطرفي لتتغير بعدها وتركيبها كلما اتجهنا نحو القسم المركزي.

2.3.3. الحفاظ على عدد الصبغيات (Maintaining the Chromosome Number)

في الحالة الطبيعية في نواة الزيجوت البشرية 46 بنية مجهرية خيطية (Microscopic threadlike structures) أو 23 شفعاً (Pairs) من هذه البنى غير مرئية بالعين المجردة، تدعى هذه البنى بالصبغيات. تحتوي نواة كل خلية بنت في نهاية الانقسام الأول الذي تخضع له الزيجوت على 23 شفعاً من الصبغيات، وبعد 40 انقساماً تالياً تحتوي نواة كل خلية على 23 شفعاً. تضمن آلية فعالة خلال دورة الانقسام الفُتِيلِيّ (Mitotic cycle) استقبال كل خلية بنت للعدد نفسه من الصبغيات بعد كل انقسام فُتِيلِيّ.

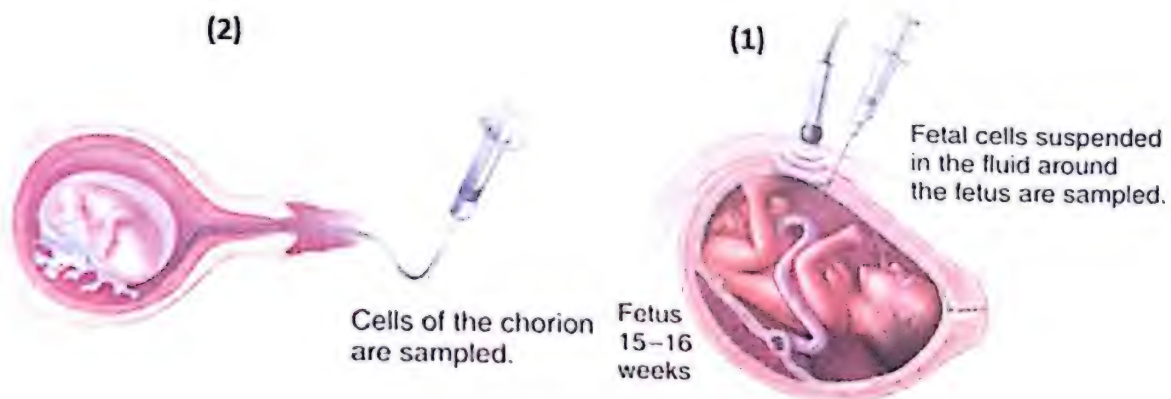
تنجم الأعراس بنوعها النطفة والببيضة عن انقسام خلوي. وقد يخطر ببال أحدا أن نحصل على زيجوت تحوي 92 صبغياً (46 صبغياً آتياً من النطفة و 46 صبغياً آتياً من البويضة)، وإذا ما استمر الحال على

هذا المنوال فإنه من المتوقع أن نحصل بعد 10 أجيال على خلية تحوي نواتها على 47104 صبغي. ولكن يضمن الانقسام الانثصافي أن يستتبل كل عرس عدداً واحداً من كل زوج من الصبغيات أي 23 صبغياً فقط، ولهذا وبعد الإخصاب (Fertilization) فإن الزيجوت ستملك 23 شفعاً من الصبغيات. يضمن الانقسام القنيلي أن ترث كل خلية بنت العدد نفسه من الصبغيات، أما الانقسام الانثصافي فيضمن أن كل خلية عرسية لن تملك أكثر من عدد واحد من كل زوج من الصبغيات. تدعى الخلايا التي لا تولد الأعراس بالخلأيا الجسدية (Somatic cells) وهي ضعفانية الصيغة الصبغية (Diploid أو 2N) أي تملك 23 شفعاً من الصبغيات، لدى الإنسان، من بينها 22 شفعاً مشتركاً ما بين الذكر والأنثى تسمى بالصبغيات الجسدية (Autosomes)، والزوج المتبقي فهو المحدد للجنس (Sex chromosomes). أما الخلايا التي تولد الأعراس فتدعى بالخلأيا المُنثشة (Germ cells)، وهي فردانية الصيغة الصبغية (Haploid أو 1N).

3.3.3. تمييز الصبغيات لدى الإنسان

(Characterizing Human Chromosomes)

نستطيع تمييز الصبغيات بعضها من بعض بإجراء النَمَط النَّوَوِي (Karyotype). يمكننا باتباع هذه التقنية رؤية الصبغيات في الطَّور النَّالِي (Metaphase) باستعمال المجهر الضوئي. تُؤخذ العينة إما من بزل السلى (Amniocentesis) أو من الرُّغَابَاتِ المَشِيمائية (Chorionic villus sampling) إذا ما أُجري التحليل في مرحلة سابقة للولادة (Prenatal) (شكل 3-11). أو أن تُؤخذ عينة من الدم أو من أي نسيج يحوي خلايا منواة إذا كان التحليل تالياً للولادة (Postnatal). تُزرع الخلايا في وسط وشروط مناسبة، ومن ثم تُحضَّر وتُلَوَّن.



(شكل 3-11): طريقة أخذ العينة في مرحلة سابقة للولادة. (1) من سائل السلى (Amniotic fluid) الحاوي على خلايا من الجنين ابتداءً من الأسبوع الخامس عشر من الحمل. (2) من الرُّغَابَاتِ المَشِيمائية ابتداءً من الأسبوع العاشر من الحمل.

1.3.3.3. تلوين الصبغيات:

أولاً إما ان تُعالج الصبغيات أنزيم التربسين (Trypsin) أو أن تخضع لتَمَسُّخ (Denaturation) حراري. ثانياً تُلوّن بصبغ خاص بالدنا.

- النمط النووي ذو العُصابات G (G bands): نحصل عليها بعد المُعالجة الإنزيمية ثم التلوين بملون غيمزا (Giemsa stain) (شكل 3-12).

- النمط النووي ذو العُصابات R (R bands): نحصل عليها بعد التمسح الحراري والتلوين بملون غيمزا. نمط توزع العُصابات معاكس (Reverse) تماماً للعُصابات في النمط النووي ذي العُصابات G ، ومن هنا اسمها (شكل 3-13).

- النمط النووي ذو العُصابات C (C-banding): نحصل بعد التمسح بهيدروكسيد الباريوم (Barium hydroxide) متبوعاً بالتلوين بملون غيمزا، ويظهر فيه مناطق الكروماتين المُغاير (Heterochromatin) خصوصاً القسيمات المركزية في الصبغيات.

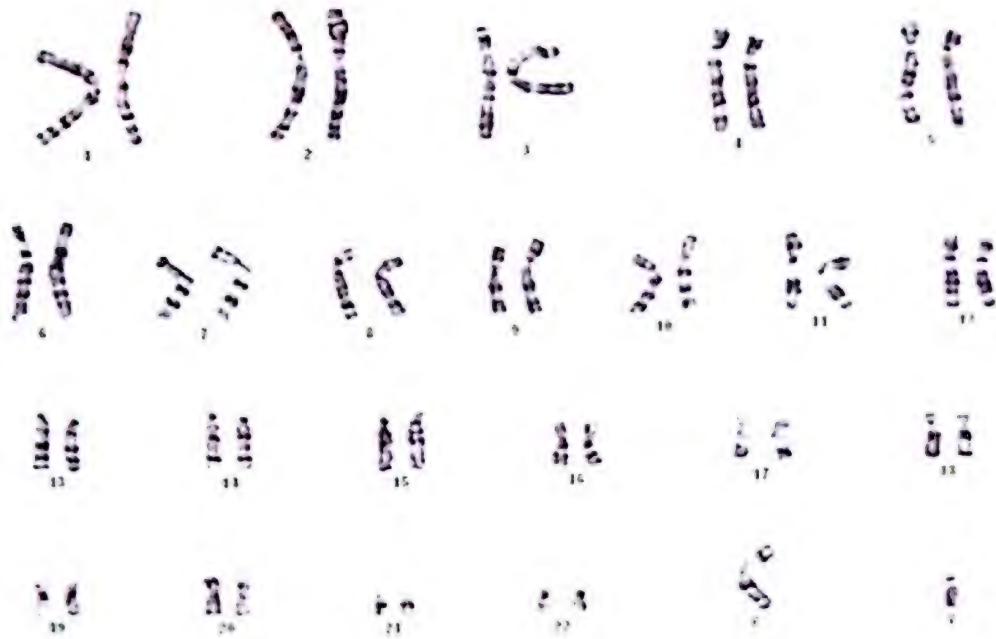
- النمط النووي ذو العُصابات Q (Q-banding): نحصل عليه باستخدام ملون تألقي (Fluorescent) مثل ملون الكيناكرين (Quinacrine stain). يتميز هذا الملون بعشقه للمناطق الغنية بأساسي الأدينين والثيمين (AT-rich DNA).

لقد اصطلح على تَسَبُّب العُصابات إلى الحرف الأول من اسم الملون المُستخدَم مثلاً: عُصابات G أو عُصابات R أو عُصابات C. يجب التأكيد هنا أنه لدى استخدام طريقة تلوين معينة فإننا نحصل على نمط تَوَرُّع للعُصابات على الصبغيات متشابه ما بين أفراد الكائن الحي الواحد. لم يعرف حتى الآن الأساس الفيزيائي لظهور تلك العُصابات، وقد يكمن السبب في أحد الاحتمالات التالية:

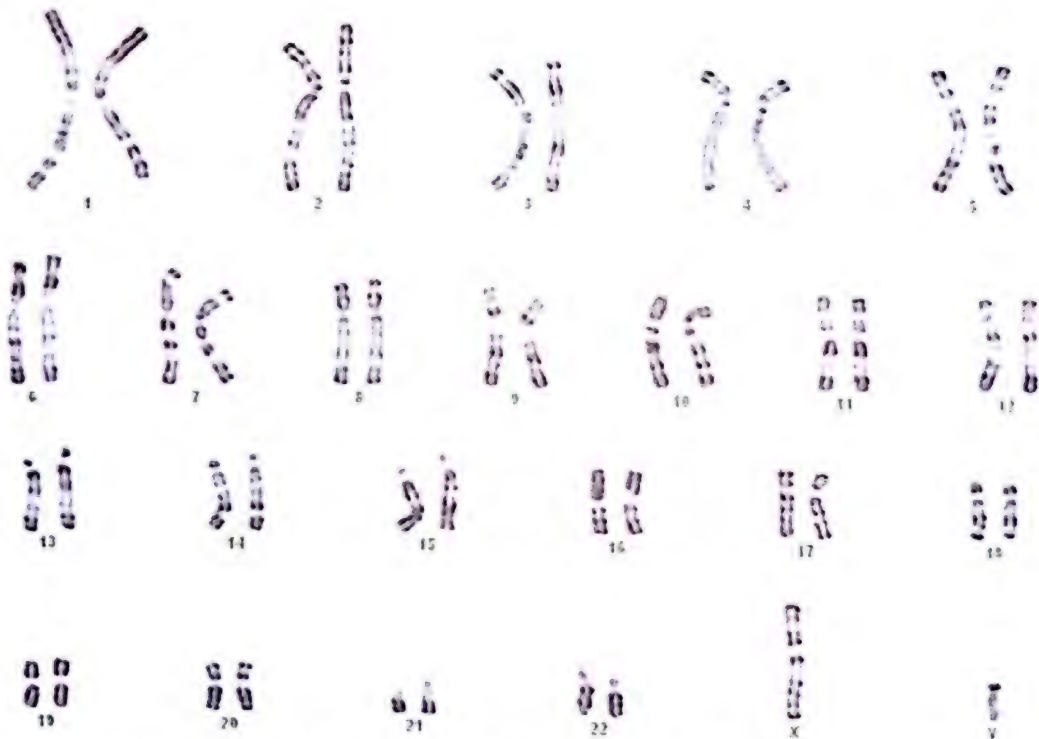
- تباين في تسلسل الدنا المكون للعُصابات المختلفة، بمعنى آخر الاختلاف بتركيب النوكليوتيدات (Nucleotides) ما بين هذه العُصابات.

- وجود بنى ثانوية مثل العُرى (Loops) في مناطق معينة في الصبغيات دون غيرها.

- ارتباط بروتينات معينة مع مناطق محددة من الصبغيات دون غيرها.



(شكل 3-12): النمط النووي ذو الغصبات G (G bands).



(شكل 3-13): النمط النووي ذو الغصبات R (R bands) للفرد نفسه الذي أجري له نمط نووي ذو الغصبات G. نلاحظ أن نمط توزع الغصبات على الصبغيات في هذا النمط معاكس تماماً للمشهد في النمط النووي ذي الغصبات G.

نُمِيز في الصبغي بعد التلوين القسيم المركزي وقسيمين طرفيين وعُصَابَات (أشرطة) (Bands). يشاهد القسيم المركزي كتضيق يقسم الصبغي إلى قسمين يدعيان بالذراعين (Arms). يملك القسيم المركزي مكاناً ثابتاً في كل صبغي. لا يتوضع القسيم المركزي غالباً في المنتصف لذا يمكننا تمييز ذراعين أحدهما قصير والآخر طويل. يطلق على الذراع القصير حرف p، مأخوذ من الكلمة الفرنسية (Petite)، وأما الذراع الطويل فيطلق عليه حرف q بسبب ترتيبه الأبجدي بعد حرف p.

قُسمت الصبغيات بحسب توضع القسيم المركزي فيها إلى مجموعات رئيسية ثلاث:

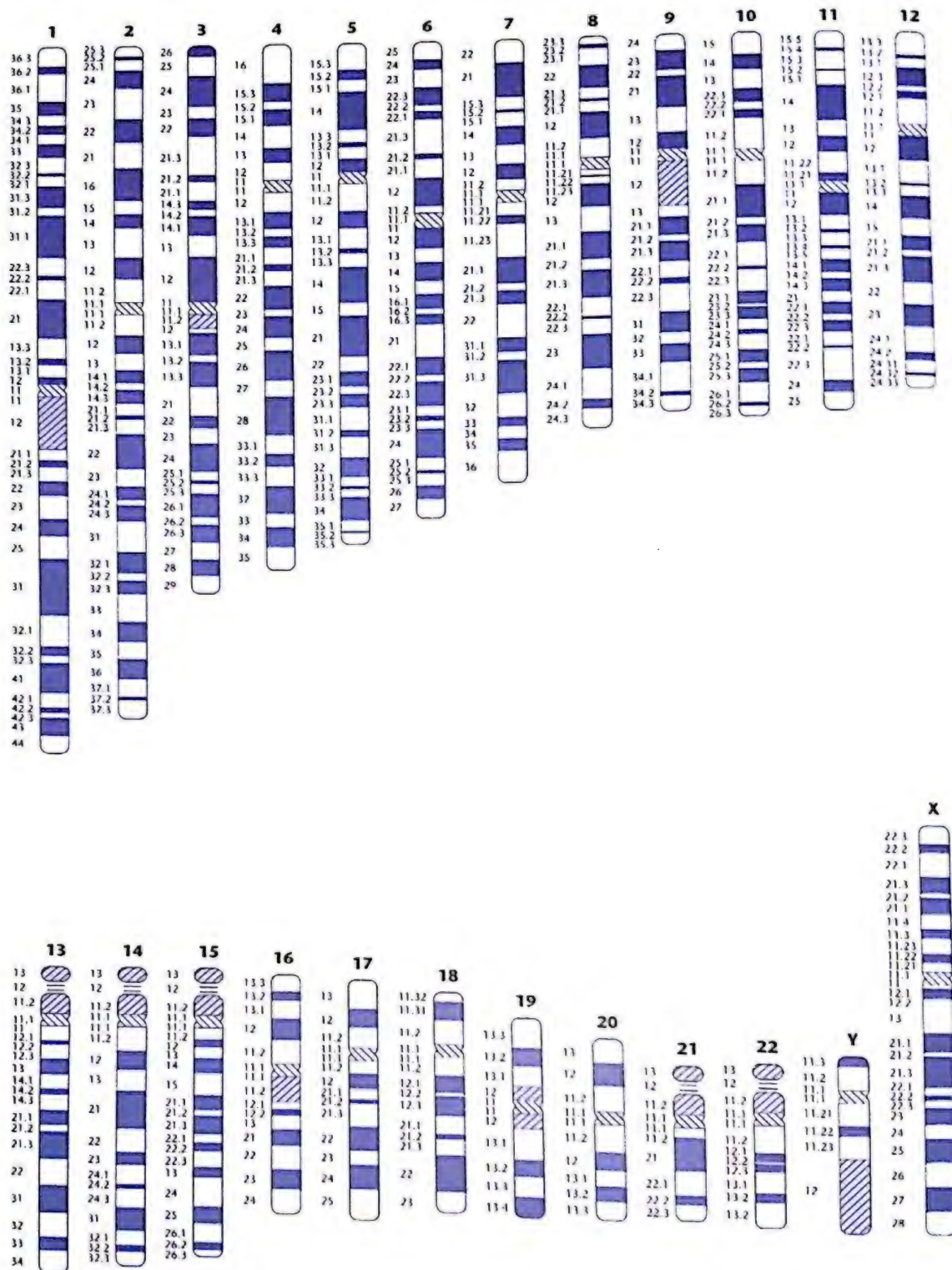
- صِبْغِيَّات وَسْطِيَّة القسيم المركزي (Metacentric chromosome): فيها يتوضع القسيم المركزي في منتصف الصبغي تقريباً (الصبغيات: 1، 2، 3، 16، 19، 20).
- صِبْغِيَّات مَوْسْطَانِيَّة (Submetacentric chromosome): فيها يتوضع القسيم المركزي بالقرب من وسط الصبغي (الصبغيات: 4، 5، 6، 7، 8، 9، 10، 11، 12، 17، 18، X).
- صِبْغِيَّات طَرْفِيَّة القسيم المركزي (Acrocentric chromosome): فيها يكون توضع القسيم المركزي بالقرب من إحدى نهايتي الصبغي (الصبغيات 13 و 14 و 15 و 21 و 22 و Y).

تملك الصبغيات 13، 14، 15، 21، 22 نهايات تشبه فقاعة تُدعى بالسائل (Satellite). تتصل هذه الفقاعة بسويقة مع بقية الصبغي. في سويقات الصبغيات هذه جينات مُرْمِزَة للRNA الريبوسومي وللبروتين الريبوسومي. تجتمع هذه المناطق بعضها مع بعض لتشكل النويات داخل النواة إذ تُصنع الريباسات.

ترقم الصبغيات الجسدية لدى الإنسان تنازلياً حسب طولها من 1 حتى 22. يملك الصبغيان المحددان للجنس لدى الأنثى الشكل نفسه ويرمز له بالرمز X، وأما الذكر فيملك صبغياً مشابهاً للصبغي X وصبغياً آخر يخص الذكر يدعى الصبغي Y. يختلف الصبغيان المحددان للجنس X و Y في طولهما.

عندما نقوم بترتيب الصبغيات فإننا نحصل في النهاية على ما يسمى بالنمط النووي. لا يعكس رقم الصبغي دائماً طولها، فالصبغي 22 أطول قليلاً من الصبغي 21 ومع ذلك اتفق العاملون في مجال الوراثة الخلوية (Cytogeneticists) على إبقاء التسمية كما هي.

تُصنّف الصبغيات بالاعتماد على طولها وعلى مكان تموضع القسيم المركزي وعلى نمط العُصَابَات. لدى تلوين الصبغيات يكتسب كل صبغي نمطاً مميزاً من تناوب العُصَابَات الداكنة والفاتحة (Light and dark bands (شكل 3-14)). تُعرّف العُصَابَة على أنها جزء من الصبغي قابلة للتمييز بسهولة من المنطقة (أو من المنطقتين) المجاورة لها إما بسبب كونها أكثر قتامة أو أكثر نصوعاً. يختلف نمط توزع العُصَابَات باختلاف طريقة التلوين المتبعة.



(شكل 3-14): النمط النووي ذو الغصبات G. تمثل الغصبات الداكنة مناطق الكروماتين المغاير (Heterochromatin) في الصبغي، فيما تمثل الغصبات الفاتحة مناطق الكروماتين الحقيقي (Euchromatin). في هذا الشكل تظهر الغصبات في الصبغيات بيضاء كانت أم سوداء كأجزاء مستعرضة، ويرمز للقسيمات المركزية

وللمناطق التي تتلون بشكل متغاير بخطوط مائلة، كما اصطلح على أن الجزء العلوي من الصبغي هو للذراع القصير دائماً.

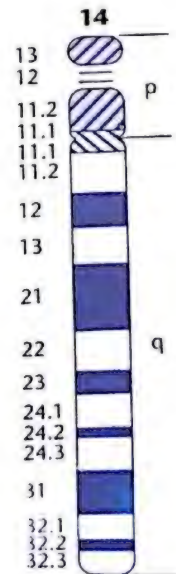
2.3.3.3 . التسمية الاصطلاحية للصبغيات:

بعيداً عن الأساس الفيزيائي لسبب ظهور العُصابات في الصبغيات، يمكننا أن نميز في كل صبغي نمطاً معيناً وثابتاً من العُصابات تسمح لنا بتمييز الصبغيات بعضها من بعض، وبتمييز العُصابات ضمن الذراع الواحد بشكل سهل. تم في البداية تحديد 400 عُصابة في النمط الفردي لمجموعة الصبغيات البشرية.

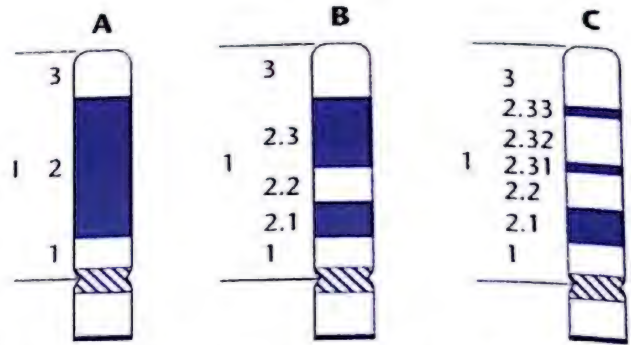
استعملت الأرقام العربية لترقيم المناطق ابتداءً من القسم المركزي باتجاه القسمين الطرفيين وبشكل تصاعدي. فمثلاً قسم الذراع الطويل في الصبغي رقم 1 إلى 4 مناطق، والذراع القصير في الصبغي نفسه إلى 3 مناطق. وحدد الذراع القصير في الكثير من الصبغيات كمجموعة واحدة. تقسم المنطقة الواحدة إلى عصابات عدة وإلى تحت عُصابات (Subbands). وعليه يمكن قراءة الرمز 14q21 المشاهد في (الشكل 3-15).

لدى تحسين دقة وطريقة إجراء النمط النووي تجاوز عدد العُصابات الظاهرة على الصبغيات إلى 550 ليصل في بعض الأحيان إلى 850 عصابة. وجد في هذه الحالة أن العُصابات الأساسية نفسها مكونة من أكثر من عصابة دعت بتحت العُصابات. وبقيت القاعدة نفسها مستعملة في ترقيم تحت العُصابات ابتداءً من القسم المركزي حتى القسم الطرفي. يظهر (شكل 3-16) نموذجاً واضحاً لترقيم المناطق والعُصابات في الصبغي.

(شكل 3-15): رسم يمثل العُصابات الممتدة على طول الصبغي 14. نلاحظ أن الذراع الطويل يتألف من ثلاث مناطق وكل منطقة تتألف من عدة عُصابات وتحت عُصابات.



وفقاً للنظام العالمي لتسمية الصبغيات لدى الإنسان فإنه في الحالة A وفي شروط " دقة عصابات " منخفضة (Low band resolution) يقسم الذراع القصير للصبغي إلى منطقة واحدة تحوي ثلاث عصابات. في الحالة B وفي شروط " دقة عصابات " أعلى (Higher band resolution) يقسم الذراع القصير للصبغي إلى منطقة واحدة تحوي ثلاث عصابات، وتقسم العصاة 2 إلى ثلاث تحت عصابات. في الحالة C وفي شروط " دقة عصابات " عالية يقسم الذراع القصير للصبغي إلى منطقة واحدة تحوي ثلاث عصابات، وتقسم العصاة 2 إلى ثلاث تحت عصابات، وتقسم تحت العصاة 3 إلى ثلاث عصابات إضافية أخرى



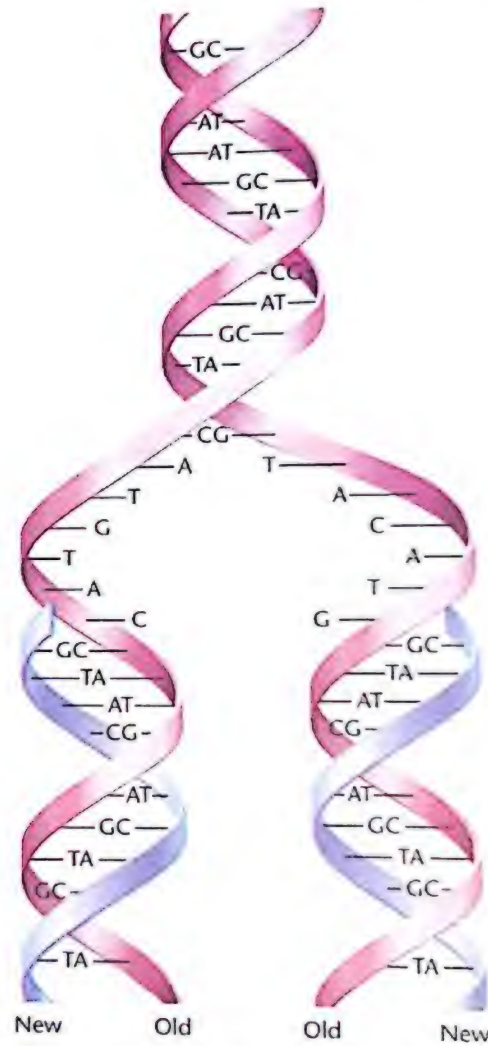
(شكل 3-16): رسم توضيحي يُبين كيفية ترقيم العصابات على طول ذراع من صبغي ما وفق النظام العالمي لتسمية الصبغيات لدى الإنسان (The International System for Human Cytogenetic Nomenclature) الذي يُرمز له اختصاراً (ISCN).

الفصل الرابع تضاعف (تنسخ) الدنا DNA Replication

المحتويات Contents

- 1.4. تجارب
- 2.4. مراحل تنسخ الدنا
- 3.4. تدقيق وإصلاح الدنا
- 4.4. التنسخ عند القسم الطرفي
- 5.4. الفرق بين تنسخ الدنا في حقيقيات النوى وفي بدائيات النوى.

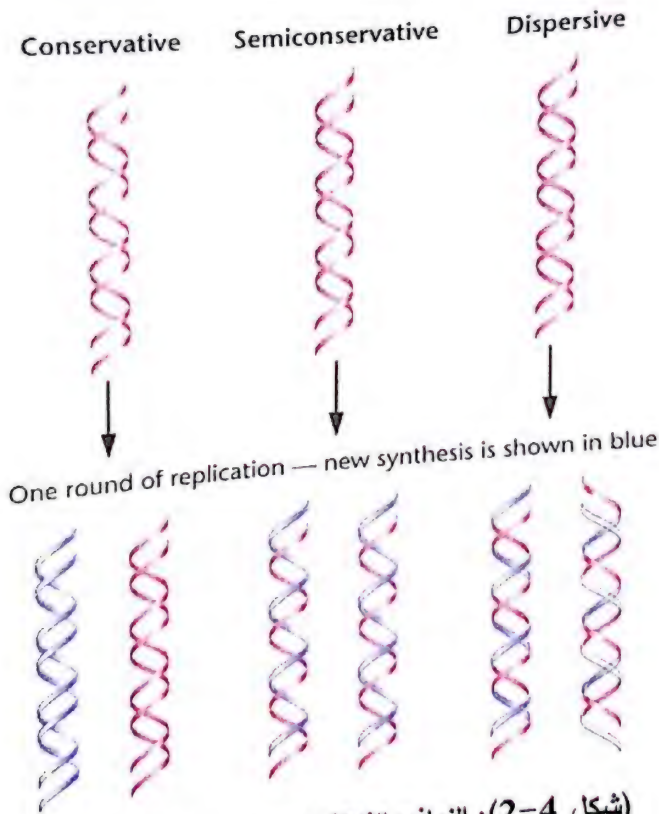
تعد عملية تنسخ الدنا مهمة لتأمينها انتقال المعلومات الوراثية عبر الأجيال. لقد توضحت هذه العملية بعد اكتشاف واتسون وكريك لشكل جزيئة الدنا ثنائي الطاق. تنسخ الدنا هو عملية اصطناع لجزيئة دنا جديدة ابتداءً من جزيئة دنا موجودة تعمل كمرصاف (Template) لاصطناع الجزيئة الجديدة. يُطلق على عملية تنسخ الدنا بالتنسخ نصف المُحافظ (Semiconservative replication)، وذلك بسبب أن كل جزيئة دنا جديدة متشكلة تحوي طاقاً أي نصف جزيئة الدنا الأصلية (شكل 4-1).



(شكل 4-1): عملية تنسخ الدنا نصف المُحافظ. يلاحظ الدنا المُصنَّع حديثاً باللون الأزرق.

دُكرت فرضيتان إضافيتان لتنسخ الدنا (شكل 4-2).

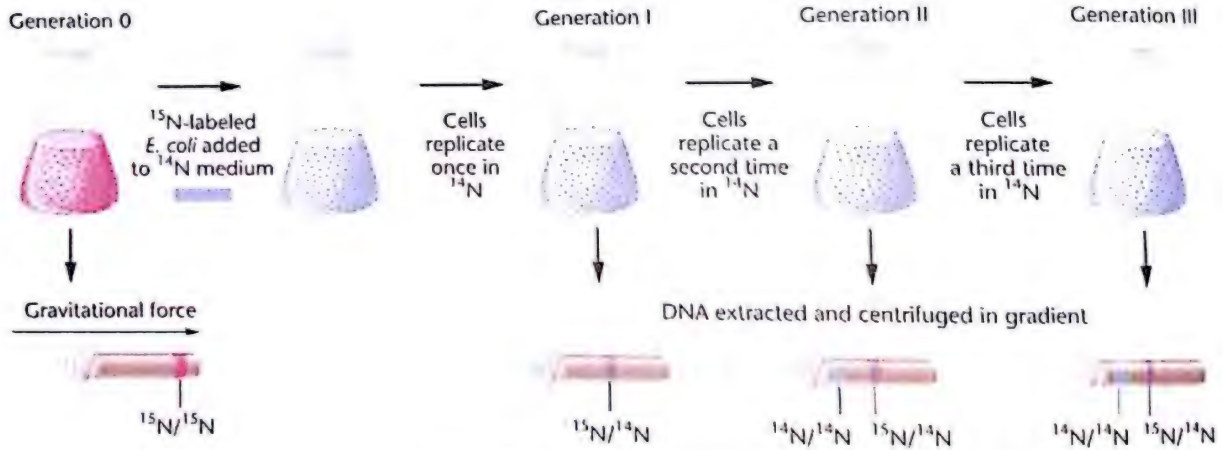
- الأولى تفترض أن طاقى الدنا الجديدين المصنعين يعودان ليرتبط بعضهما ببعض بواسطة الروابط الهيدروجينية بين الأدينين والثيمين من جهة وبين السيتوزين والغوانين من جهة أخرى. أطلق على عملية التضاعف هذه التنسخ المحافظ (Conservative replication).
- الثانية تفترض أن الطاقين الأصليين ويسميان الطاقين الوالديين (Parental strands) يتبعثران ما بين جزيئتي الدنا المتشكلتين. أطلق على عملية التضاعف هذه التنسخ المبعثر (Dispersive replication). تحتاج عملية تنسخ الدنا في عملية التضاعف هذه لانقسام الطاقين الوالديين خلال عملية التضاعف حيث تصبح العملية جد معقدة. ويمكن القول: إن التنسخ المبعثر نادر الحدوث.



(شكل 4-2): النماذج الثلاثة المقترحة لعملية تنسخ الدنا.

1.4. تجارب Stahl و Meselson

نشر كل من Matthew Meselson و Franklin Stahl عام 1958 نتائج تجاربهما حول تنسخ الدنا في الجراثيم. زرع الباحثان جرثومة الإشريكية القولونية (*Escherichia coli*)، اختصاراً يُرمز لها *E. coli*، في وسط يحوي $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$. ^{15}N هو نظير ثقيل (Heavy isotope) وثابت للنيتروجين. جمع الباحثان الجراثيم وقاما بإجراء تنبذ مُدرّج الكثافة (Density gradient centrifugation) ولاحظا وجود جزيئات الدنا الحاوية على ^{15}N فقط في أسفل الأنبوب. مما يعني أن جزيئات الدنا الحاوية على ^{14}N الطبيعي مرتبطة مع تلك المُصنّعة حديثاً. أعيدت التجربة مرة ثانية، وزُرعت الجراثيم الحاوية على ^{15}N في وسط يحوي $^{14}\text{NH}_4\text{Cl}$ ليكون مصدراً للنيتروجين، وهو مماثل لذلك الموجود في الدنا الطبيعي. ثم أُجري التثقيب بعد كل مرة تتضاعف فيها الجراثيم. لوحظ ترسب الدنا الجديد بعد جيل واحد من زرع الجراثيم في مكان أعلى من أسفل الأنبوب. وبعد جيلين من الزرع ظهرت عصابات ترسيب، وبقيت العصابتان بعد ثلاثة أجيال. تفسير ذلك أن نسبة الدنا الحاوي على ^{15}N و ^{14}N في الجيل الأول كانت متساوية، فيما قلت نسبة جزيئات الدنا الحاوي على ^{15}N في الجيلين الثاني والثالث دون أن تختفي، وزادت نسبة جزيئات الدنا الحاوية على ^{14}N ، وهو ما يفسر ظهور عصابتي ترسيب. تم التأكيد من خلال هذه التجارب أن الجراثيم تعتمد تنسخ الدنا نصف المُحافظ (شكل 4-3).



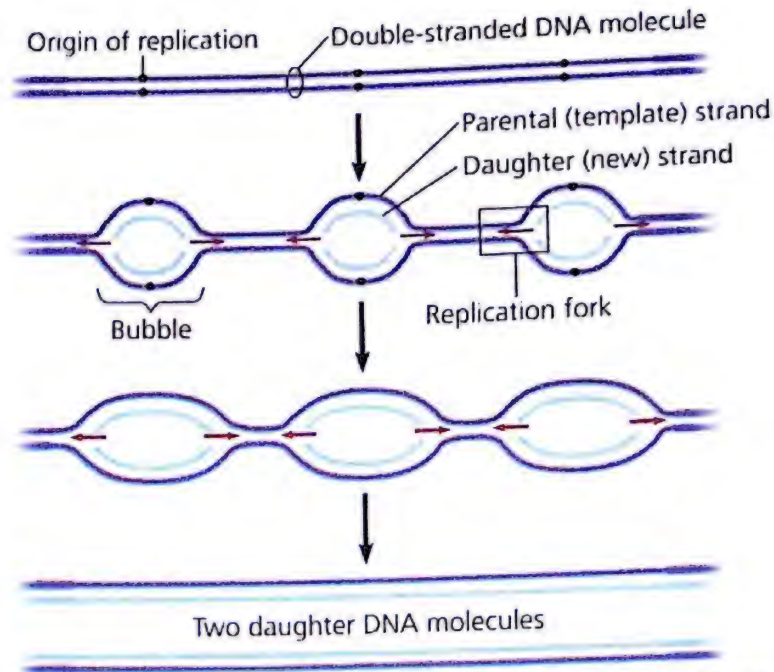
(شكل 4-3): تجارب Stahl و Meselson وإثبات التنسخ نصف المحافظ.

2.4. مراحل تنسخ الدنا (Steps of DNA Replication)

يحدث تنسخ الدنا خلال طور الاصطناع (S phase) من الدورة الخلوية (cell cycle). يدخل في عملية تنسخ الدنا عدد كبير ومتنوع من البروتينات والإنزيمات ابتداءً من عملية فك طاقى الدنا بعضها عن بعض وانتهاءً بتحري الأخطاء الناجمة عن عملية التنسخ وإصلاحها.

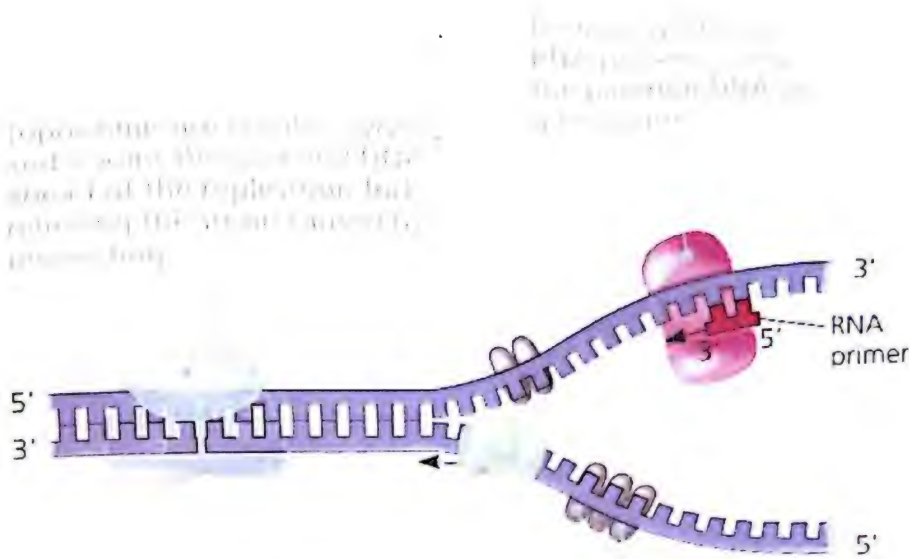
يتنسخ الدنا خلال طور الاصطناع (S phase) في كل من الانقسام الفتيلي والانقسام الانتصافي. تبدأ العملية بإبعاد البروتينات المرتبطة مع الدنا في حقيقيات النوى أو تعديلها حيث تسمح للبروتينات والإنزيمات الداخلة في تنسخ الدنا بالقيام بعملها. تعود هذه البروتينات (الهستونات وغيرها) للارتباط من جديد بالدنا حالما تنتهي عملية التنسخ وتشكل جزيء دنا جديداً. تتم عملية اصطناع جزيئات الهستون (Histone) بالتزامن مع تنسخ الدنا في الطور S من الدورة الخلوية.

- تبدأ عملية التنسخ بتحطيم جزئي لروابط الهيدروجين ما بين الأسس الآزوتية المتقابلة ما بين طاقى الدنا. يُدعى المكان الذي يحدث فيه تحطيم لروابط الهيدروجين بشوكة التنسخ (Replication fork). تؤدي عملية تحطيم روابط الهيدروجين إلى فك طاقى الدنا الملتفين (Unwinding)، ويتم بواسطة إنزيم Helicase. ترتبط بروتينات مع طاقى الدنا لتبقيهما متباعدين. يسبب فك طاقى الدنا بعضهما عن بعض زيادة في توتر والتفاف الطاقين، وتشكل عقدة في منطقة قريبة من شوكة التنسخ. لذا يقوم إنزيم الـ Topoisomerase بقطع طاقى الدنا وحل العقدة أو الالتواء المتشكل عن فك الارتباط بين طاقى الدنا ثم وصل الطاقين بعضهما مع بعض كما كانا في الأصل (شكل 4-4) و(شكل 4-5).



(شكل 4-4): يبدأ التتسخ بتشكل شوكة التتسخ في مواقع عدة على طول الدنا الخطي، يليه ظهور ما يسمى الفقاعات (Bubbles)، وهي إشارة إلى أن عملية التتسخ قد بدأت في الاتجاهين.

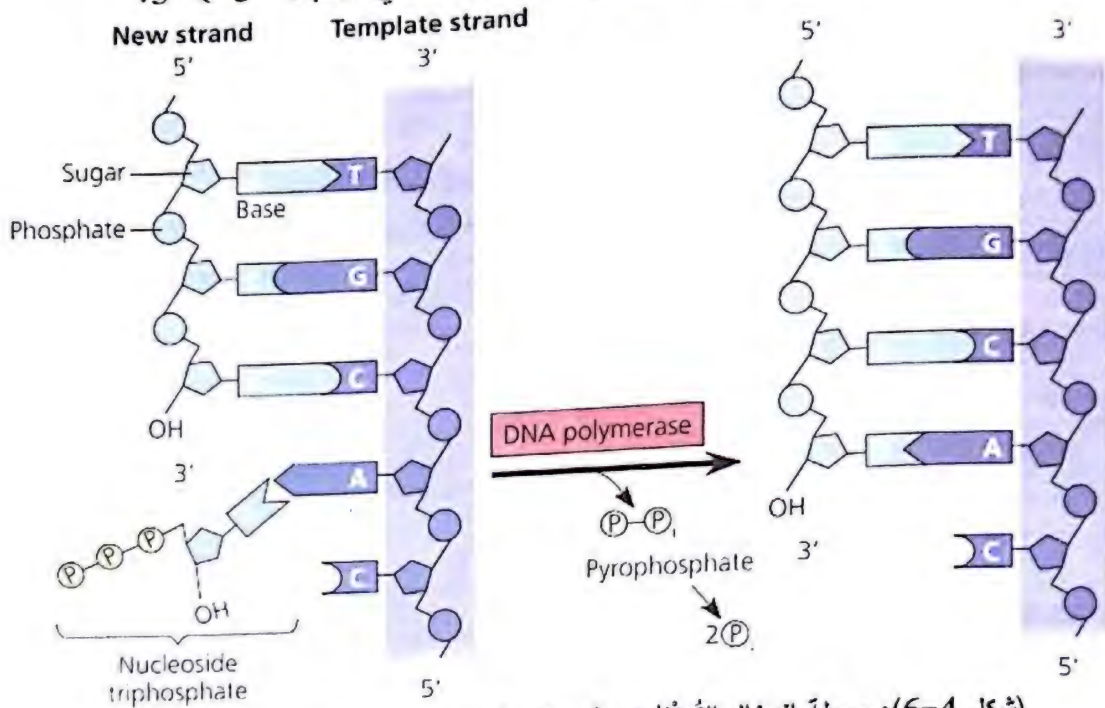
- يقوم إنزيم الـ primase باصطناع مَشارع من الرنا (RNA primers)، ترتبط مع طاق الدنا في أماكن بدء التتسخ. يبلغ طول المَشرع الواحد نحو 5-10 نوكليوتيد، ويبدأ اصطناع الطاق الجديد من الدنا من النهاية 3' للمَشرع (شكل 4-5).



(شكل 4-5): دور بعض الإنزيمات والبروتينات الداخلة في عملية تنسخ الدنا.

- يرتبط إنزيم بُوليميراز الدنا من النمط الثالث (DNA polymerase III)، يُرمز له اختصاراً DNA pol III، مع مَشارع الرنا ويقوم بجلب النوكليوتيدات ورصفها بشكلٍ متمم للطاق الأصلي ويُسمى بالمِرصاف (Template)، ويربط بعضها مع بعض. تُضاف النوكليوتيدات تباعاً ابتداءً من مَشرع الرنا. إذ ترتبط زمرة الفوسفات للنوكليوتيد القادم مع زمرة الهيدروكسيل ($-OH$) $3'$ الموجودة في النوكليوتيد المندخل قبلاً على طاق الدنا النامي، ويؤدي ذلك إلى تشكيل رابطة فوسفودي استر. وتكون جهة اصطناع طاق الدنا الجديد هي $5' \leftarrow 3'$. تملك النوكليوتيدات المستعملة في تنسخ الدنا ثلاث زمر متعاقبة من الفوسفات متصلة مع الكربون $5'$ الموجود في جزيئة السكر (Deoxyribose). يطلق على النوكليوتيدات هذه مسمى ثلاثي فُسفاتِ النوكليوزيد (Nucleoside triphosphate)، ويسمى الفوسفات الأول المتصل مع الكربون $5'$ الفوسفات α والثاني الذي يليه الفوسفات β والثالث الفوسفات γ . ينفصل الفوسفاتين β و γ عن الفوسفات α ، ويرتبط هذا الأخير مع زمرة الهيدروكسيل ($-OH$) $3'$ الموجودة في النوكليوتيد المندخل آنفاً. ثم تتشكل روابط هيدروجينية بين الأسس المتتامة في الطاقين المتقابلين وهي التي تمنح الثباتية للجزيئة الضخمة. تأتي النوكليوتيدات عن طريق الغذاء. ذكرنا سابقاً أن عملية الاصطناع تتم في

الاتجاه $3' \leftarrow 5'$ وهي عكس اتجاه طاق الدنا الوالدي (Parental DNA)، بكلام آخر لا يستطيع إنزيم بُولِيمِيرَاز الدَّنا إضافة النُّوكْلِيوتيدات إلَّا وَفْق هذا الاتجاه شكل (4-6). السؤال الذي يطرح نفسه هنا كيف تتم عملية اصطناع الطاق المُقابل ذي الاتجاه $5' \leftarrow 3'$ ؟



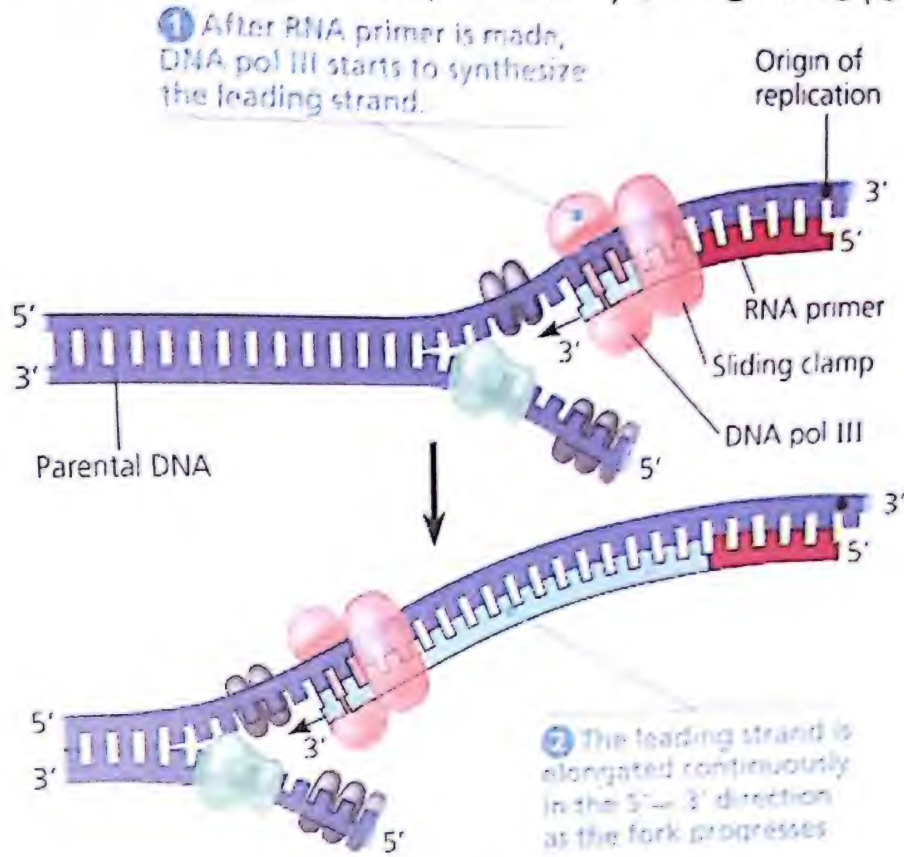
(شكل 4-6): مرحلة اندخال النُّوكْلِيوتيد في طاق الدنا الجديد بواسطة إنزيم بُولِيمِيرَاز الدَّنا.

إذا ما نظرت إلى (شكل 4-7) تجد أن اصطناع طاق الدنا الجديد ابتداءً من شوكة التضاعف يتم بعملية مستمرة ومتتابعة وفق الاتجاه $3' \leftarrow 5'$ ، تستمر عملية إدخال النُّوكْلِيوتيدات من قِبَل إنزيم بُولِيمِيرَاز الدَّنا كلما تم فك الطاقين بعضهما عن بعض. يُسمى طاق الدنا المُصنَّع وَفْق الاتجاه $5' \leftarrow 3'$ بالطاق المباشر (Leading strand).

يصنع الطاق الجديد على الطرف المقابل على مراحل بشكل شدف، ويسمى الطاق المتكئ (Lagging strand). يطلق على هذه الشدف اسم العالم الياباني الذي اكتشفها أول مرة Okazaki. يبلغ طول الشدف هذه نحو 1000-2000 نُّوكْلِيوتيد عند بدائيات النوى، و 100-200 نُّوكْلِيوتيد عند حقيقيات النوى. تحتاج كل شدف من شدف أوكازاكي إلى مَشرع خاص بها ليتم اصطناعها، بالمقابل يكفي مَشرع واحد لاصطناع الطاق الرئيسي (شكل 4-8).

- يقوم إنزيم بُولِيمِيرَاز الدَّنا من النمط الأول (DNA polymerase I) بإزالة مَشارع الرنا قرب انتهاء تنسخ الدنا واستبدالها بنُّوكْلِيوتيدات من الدنا.

- لا يستطيع إنزيم بُوليميراز الدنا من النمط الأول ربط شدف أوكازاكي بعضها مع بعض، لذا يقوم إنزيم رابط يسمى الليغاز (DNA ligase) بالمهمة، ويربط بين هذه الشدف (شكل 4-8).



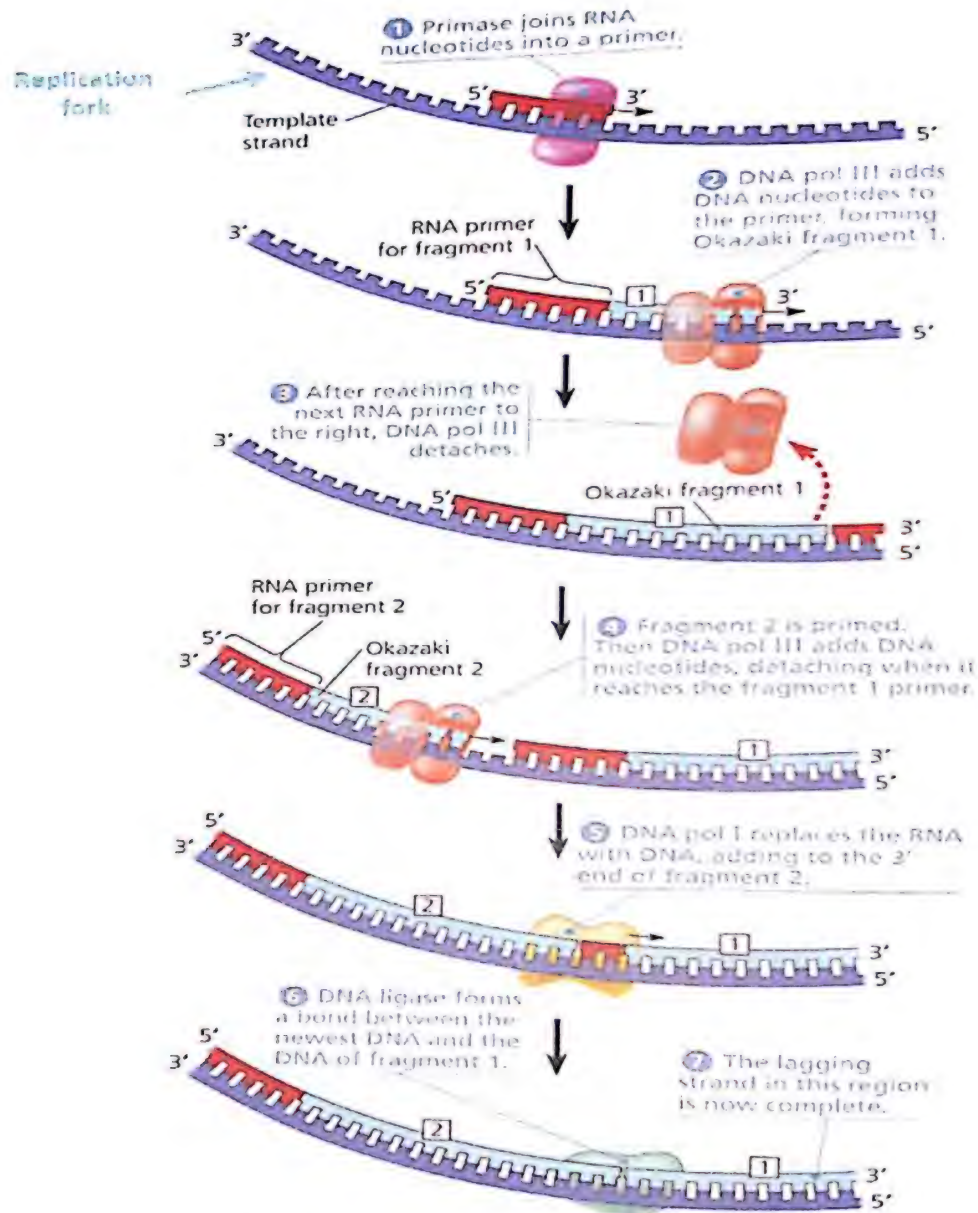
(شكل 4-7): اصطناع الطاق المباشر خلال تنسخ الدنا. يقوم البروتين sliding clamp بتحريك إنزيم بُوليميراز الدنا من النمط الثالث (DNA pol III) في هذا الشكل على طول طاق الدنا.

3.4. تدقيق وإصلاح الدنا (Proofreading and Repairing DNA)

قد تحصل بعض الأخطاء مع أنها نادرة (1 من 10^5) في عملية تنسخ الدنا، وتسبب غالباً تغييراً في زوج واحد من الأسس، وقد يحدث أحياناً حذف أو تضاعف لشدف من الدنا. يقوم إنزيم بُوليميراز الدنا بإصلاح (repair) وتدقيق (proofread) كل نُوكليوتيد يتم رصفه مقابل النُوكليوتيد الآخر المُتمم الموجود على الطاق المرصاف. إذا ما دخل نُوكليوتيد بشكل خاطئ يقوم إنزيم بُوليميراز الدنا بإزالته ووضع النُوكليوتيد الصحيح مكانه.

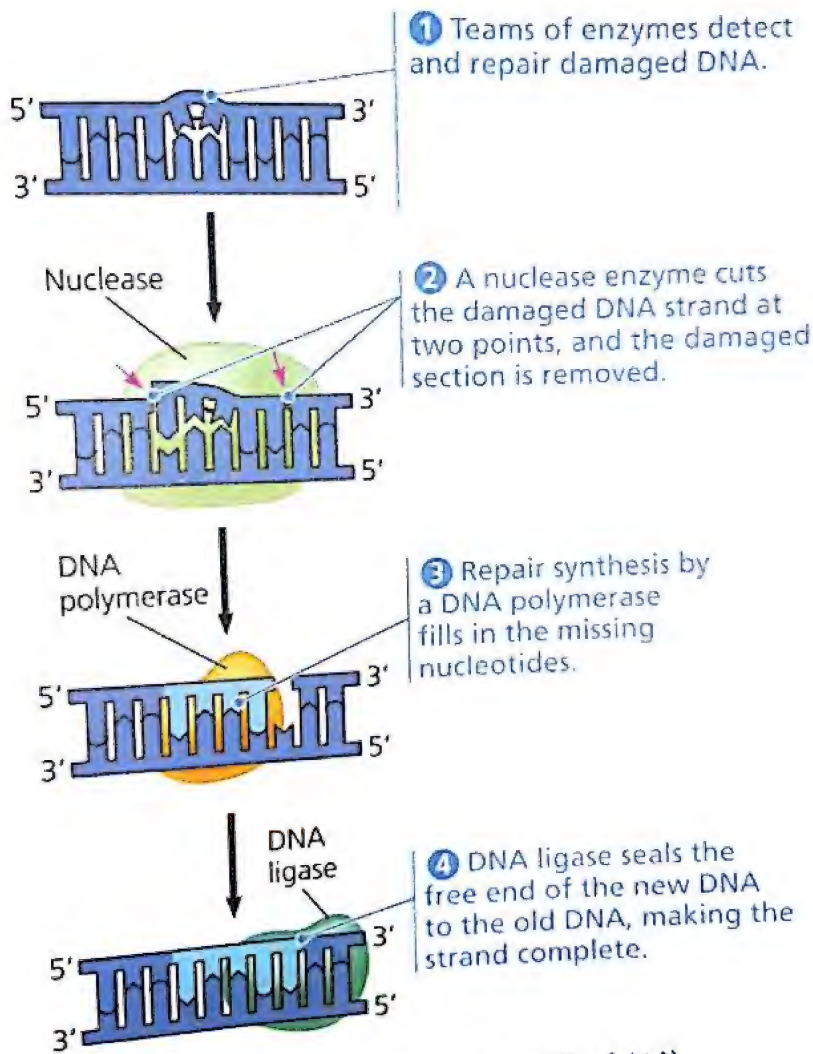
يشير مصطلح Mismatched nucleotides إلى النُوكليوتيدات التي يقابل بعضها بعضاً في طاق الدنا بشكل خاطئ، كأن يتقابل السيتوزين مع الثيمين. تستطيع بعض النُوكليوتيدات المتقابلة بشكل خاطئ

بعضها مع بعض أن تتفادى إصلاحها من قبل إنزيم بُولِيمِيرَاز الدَّنا. ولكن تقوم مجموعة أخرى من البروتينات والإنزيمات بمهمة إصلاح الخلل، تُسمى هذه المجموعة جهاز إصلاح الدنا (DNA repair system). يقوم هذا الجهاز بإصلاح الخلل الناجم عن تنسخ الدنا وإصلاح أذيات الدنا (DNA Damaged) المُسبَّبة بعوامل كيميائية أو فيزيائية كي لا تتشكل الطفرة. تتلخص عملية إصلاح الدنا بالخطوات الآتية (شكل 4-9):



(شكل 4-8): مراحل اصطناع الطاق المتكئ.

- اكتشاف الأذية في جزيئة الدنا.
- يقوم إنزيم النوكلياز (Nuclease) بقص الدنا المتأذي في نقطتين وإزالة الشدفة المتأذية.
- يملأ إنزيم بوليميراز الدنا بالنوكليوتيدات المناسبة مكان النوكليوتيدات التي تمت إزالتها.
- يربط إنزيم الليغاز بين نهايات النوكليوتيدات، أي يشكل روابط فوسفودي استر بينها.



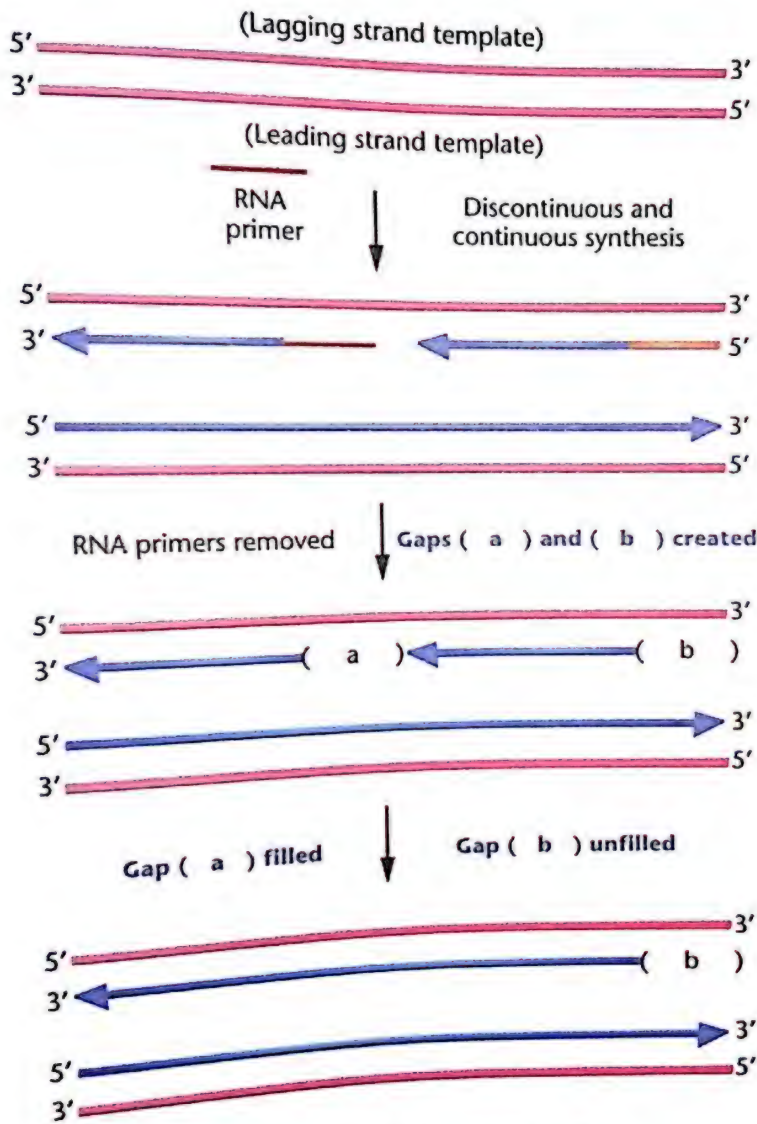
(شكل 4-9): مراحل عمل جهاز إصلاح الدنا.

4.4. التنسخ عند القسم الطرفي (Replication at the Telomere)

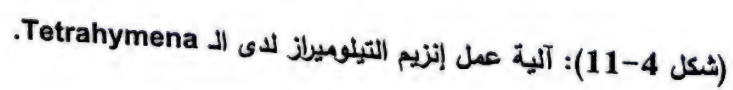
ذكرنا سابقاً أن القسم الطرفي يقع عند طرفي الصبغي، ويكثر فيه عند الثدييات تسلسل TTAGGG عند أحد الطاقين، وبالتأكيد سيكون التسلسل على الطاق المقابل AATCCC. يسمى الطاق الأول الطاق الغني بالغوانين والثاني الطاق الغني بالسيٲوزين. بما أن بنية الصبغيات البشرية خطية، ومن ثم فإن نهاية الصبغي تمثل نهاية طاقى الدنا، بكلام آخر ينتهي (أو يبدأ) الصبغي بطاق 5' وطاق 3' (شكل 4-10). عندما يحدث التنسخ فإن الطاق الغني بالسيٲوزين والذي يبدأ بـ 3' وينتهي بـ 5' سيكون هو الطاق المرصاف لتصنيع الطاق المباشر. أما بالنسبة للطاق المقابل (الطاق الغني بالغوانين) الذي يبدأ بـ 5' وينتهي بـ 3' فإنه هو الطاق المرصاف لتصنيع الطاق المتكئ. يتم تصنيع الطاق المتكئ على مراحل كما ذكرنا سابقاً، ولكن المشكلة تكمن أنه عندما يتم نزع المشرع المتوضع عند النهاية 3' فلن يتم ملء الفراغ وسيترك فجوة (Gap)، أي إن الطاق المتكئ المصنّع حديثاً سيكون أقصر من الطاق المرصاف بحسب طول مِشرع الرنا (شكل 4-10). وكلما حدث انقسام خلوي واجهت الصبغيات المعضلة نفسها، وستصبح الصبغيات أقصر في الخلايا البنت (Daughter cells) المتولدة عن الانقسام حتى يَطال النقص في طول الصبغيات المنطقة القريبة من القسم الطرفي الحاوية على جينات، ويحدث حذف لهذه الجينات.

اكتشف إنزيم Telomerase لدى حقيقيات النوى كلٌّ من Elizabeth Blackburn و Carol Greider وهو الذي ساعد على فهم حل مشكلة التقصير (Shortening). وُجد أن الطاق الغني بالغوانين (G-rich strand) يمتد بشكل طاق مفرد يطلق عليه ذيل أحادي الطاق (single-stranded tail). يُوضّح (شكل 4-11) آلية عمل إنزيم التيلوميراز عند الـ Tetrahymena (نوع من أنواع الأولي). يحوي الذيل أحادي الطاق عدة تكرارات للتسلسل 3'-TTGGGG-5'. يحوي إنزيم Telomerase في بنيته على قطع صغيرة من تسلسلات الرنا وهي AACCCCAAC في Tetrahymena. تعمل هذه القطع كأداة إرشاد أو دليل (Guide) لضمان ارتباط إنزيم التيلوميراز مع القسم الطرفي. وتعمل قطع الرنا هذه كمرصاف لاصطناع تكرار TTGGGG الموجود في طاق من الدنا. تُسمى عملية اصطناع طاق DNA ابتداءً من طاق RNA الانتساخ العكسي (Reverse transcription). كما يظهر في (شكل 4-11) يتقابل جزء من الرنا الموجود في معقد إنزيم التيلوميراز مع بضعة نُوكليوتيدات موجودة في نهاية الذيل أحادي الطاق. يليها انتساخ عكسي لجزء من الرنا مما يؤدي لاستطالة الذيل أحادي الطاق. ينزاح معقد إنزيم التيلوميراز نحو اليسار، ويكرر العملية نفسها مؤدياً لزيادة في استطالة الذيل أحادي

الطاق. يأتي بعدها دور الإنزيمات الداخلة في تنسخ الدنا، إذ تقوم كل من إنزيمات البريماز (Primase) وبوليميراز الدنا والليغاز باصطناع وملء الفجوة وفق الخطوات نفسها المذكورة سابقاً في آلية تنسخ الدنا. نذكر في النهاية أن فعالية إنزيم التيلوميراز غائبة في الخلايا الجسدية (Somatic cells)، ومن ثم فإن الخلايا الجسدية تفقد القدرة على البقاء بعد عدة انقسامات. أما الخلايا الخبيثة (Malignant cells) فإنها تمتلك فعالية التيلوميراز (Telomerase activity)، وبهذه الآلية تُصبح خلايا خالدة (Immortalized cells).



(شكل 4-10): معضلة القسيم الطرفي.



5.4. الفرق بين تنسخ الدنا في حقيقيات النوى (Eukaryotes) وفي بدائيات النوى (Prokaryotes)

- تنسخ الدنا أعقد في حقيقيات النوى منه في بدائيات النوى، وذلك بسبب احتواء خلايا حقيقيات النوى على كمية DNA أكبر من تلك الموجودة في الخلايا بدائية النوى، وكون الدنا في حقيقيات النوى يحمل بين ثناياه بروتينات (الهستونات).
- تصطنع إنزيمات بُولِيمِيرَاز الدَّنا الدنا في حقيقيات النوى بمعدل أبطأ بخمس وعشرين مرة مقارنةً بأنزيمات بُولِيمِيرَاز الدَّنا الموجودة في بدائيات النوى. ولتفادي التأخير في عملية تنسخ الدنا تمتلك حقيقيات النوى الكثير من مواضع منشأ التنسخ تصل في مجين الثدييات إلى 25000 موضع.
- تحوي بدائيات النوى مثل الإشريكية القولونية نحو 15 جزيئة من إنزيم بُولِيمِيرَاز الدَّنا الثالث، فيما قد يصل العدد في خلايا الثدييات إلى عشرة آلاف جزيئة.
- تستعمل خلايا حقيقيات النوى أنواعاً مختلفة من إنزيم بُولِيمِيرَاز الدَّنا (يصل لدى الإنسان إلى 14 نوعاً) بينما لدى بدائيات النوى أنواع إنزيم بُولِيمِيرَاز الدَّنا أقل.
- شُدْف أوكازاكي لدى حقيقيات النوى أصغر من مثيلاتها في بدائيات النوى.

الفصل الخامس

الانتساخ

Transcription

المحتويات Contents

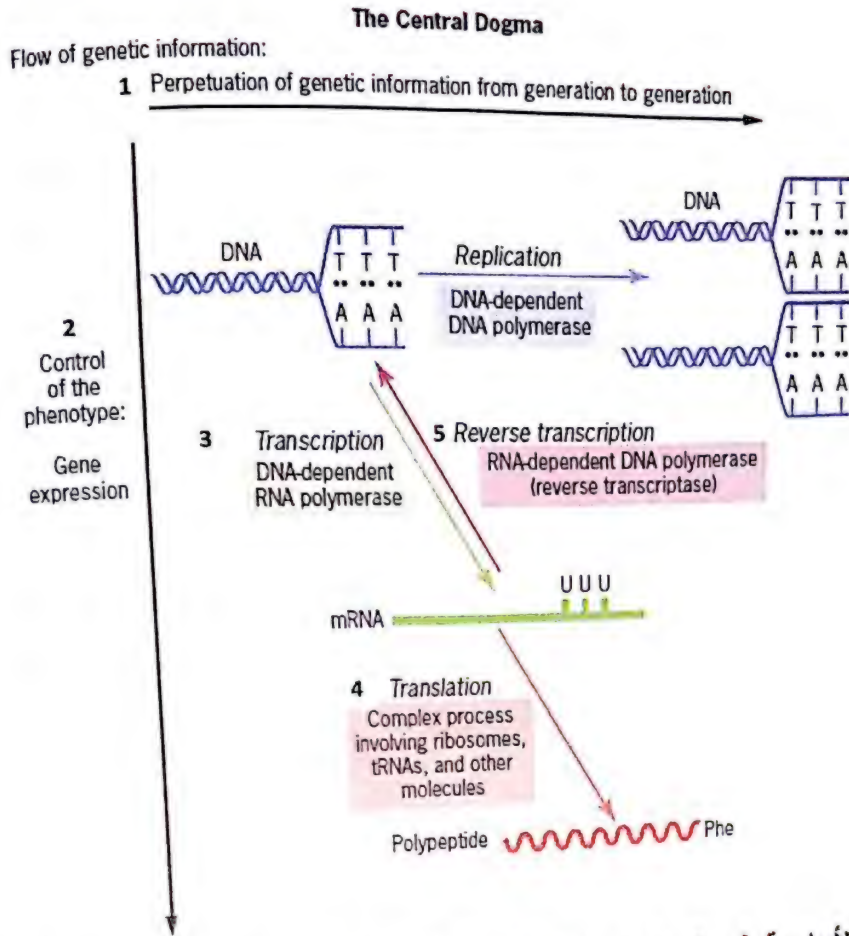
- | | |
|--|--|
| 2.3.5. إطالة سلسلة الرنا وإضافة قلنسوة من 7 ميثيل غوانوزين 7MG في النهاية "5". | 1.5. المسلمة المركزية. |
| 3.3.5. إنهاء سلسلة الرنا عبر شطر السلسلة وإضافة ذيول عديد الأدينين. | 2.5. الانتساخ في بدائيات النوى. |
| 4.3.5. تدقيق الرنا. | 1.2.5. طور البدء في بدائيات النوى. |
| 5.3.5. الجينات المتقطعة في حقيقيات النوى الإكسونات والإنترونات. | 2.2.5. طور الاطالة في بدائيات النوى. |
| 6.3.5. إزالة تسلسلات الإنترونات عبر تصغير الرنا. | 3.2.5. طور الانتهاء في بدائيات النوى. |
| | 4.2.5. تزامن الانتساخ والترجمة وتترك الرنا المرسال في بدائيات النوى. |
| | 3.5. الانتساخ وتعديل الرنا في حقيقيات النوى. |
| | 1.3.5. طور البدء في حقيقيات النوى. |

نعيش اليوم في عصر تكنولوجيا المعلومات التي تؤثر في كل مناحي حياتنا، إذ يمكن لأجهزة الحاسوب أن تخزن وتسترجع وتحلل المعلومات بسرعة البرق. ويتألف "دماغ" الحاسوب من رقاقة مصنوعة من السيليكون الحاوية على دارات كهربائية معقدة ومتداخلة قادرة على الاستجابة آنياً لمحرّضات من الطاقة. وفي عملها المدهش، تستخدم الحواسيب رميزاً ثنائياً Binary Code، كلغة تتألف من مجموعة أصفار 0s ومجموعة واحدات 1s بالمقارنة مع اللغة العربية التي تستخدم 28 حرفاً. وبكل وضوح، وإذا ما استطاعت الحواسيب أن تتجزأ أعمالها الساحرة باستخدام رميز مكوّن من حرفين فقط، فما بالنا باللغات التي تستخدم أحرفاً وشيفرات أطول وأكثر تعقيداً.

نجيب في هذا الفصل عن سؤالين أساسيين؛ الأول: كيف تُكتب المعلومات الجينية في المخلوقات الحية باستخدام أربعة أحرف فقط هي الأسس الأربعة للدنا، والثاني: كيف يُمكن التعبير عن هذه المعلومات الجينية خلال نمو وتطور الكائن الحي، مركّزين بالطبع على الدور المفتاحي لجزيئات الرنا في عملية التعبير الجيني. كما سنميز في هذا الفصل بين الانتساخ في بدائيات وحقيقيات النوى، مبرزين التشابهات والاختلافات فيما بينها.

1.5. المسألة الأساسية Central Dogma

تبعاً للمسألة الأساسية للبيولوجيا الجزيئية، تُعبّر المعلومات الجينية من الدنا إلى الدنا عبر الأجيال، كما تُعبّر من الدنا إلى البروتين خلال ما يدعى بالتعبير الجيني Gene Expression (الشكل 5-1). وخلال تضاعف الفيروسات، يمكن أن تنتقل المعلومات أيضاً من الرنا إلى الرنا. يتطلب نقل المعلومات الجينية من الدنا إلى البروتين خطوتين؛ الأولى: الانتساخ Transcription، وهي نقل المعلومات الجينية من الدنا DNA إلى الرنا RNA، والثانية: الترجمة Translation، أو نقل المعلومات من الرنا إلى البروتين. إضافةً لذلك، قد تنتقل المعلومات أحياناً من الرنا RNA إلى الدنا DNA خلال قلب Conversion مجينات بعض الفيروسات المؤلفة من الرنا إلى مقابلاتها من جزيئات الدنا، وهو ما يطلق عليه الانتساخ العكسي Reverse Transcription. وهكذا، يمكن لنقل المعلومات الجينية من الدنا إلى الرنا أن يصبح عكوساً، بينما يكون نقلها من الرنا إلى البروتين دائماً باتجاه واحد غير عكوس.



(الشكل 1-5) المسألة الأساسية في البيولوجيا الجزيئية. (1) تعبر المعلومات الجينية من جيل خلوي إلى آخر عبر تضاعف الدنا بتواسط بوليميراز الدنا المعتمد على الدنا. (2) يعكس النمط الظاهري Phenotype للكائن الحي التعبير الجيني في خلاياه. (3) تُنقل المعلومات الجينية من الدنا إلى الرنا بعملية الانتساخ Transcription بتواسط بوليميراز الرنا المعتمد على الدنا. (4) تُنقل المعلومات من الرنا إلى البروتينات بعملية الترجمة Translation. (5) يمكن للمعلومات أن تُنقل في بعض الفيروسات من الرنا إلى الدنا بعملية الانتساخ العكسي Reverse Transcription بتواسط بوليميراز الدنا المعتمد على الرنا أو ما يدعى إنزيم النسخة العكسية Reverse Transcriptase.

تدعى جزيئات الرنا التي تتم ترجمتها في الريباسات بجزيئات الرنا المرسل Messenger RNA أو (mRNAs). وفي بدائيات النوى، يكون الجزيء المنتج الأولي للانتساخ، المُنتَسَخ الأولي Primary Transcript أو الرنا المرسل البدئي Primary mRNA، مطابقاً تماماً للرنا المرسل الناضج Mature mRNA القابل للترجمة (الشكل 2-5a). أما في حقيقيات النوى، فيخضع الرنا المرسل البدئي إلى عمليات عدة تضم قَطْع (شطر) بعض التتاليات وتعديل نهايتي الرنا المرسل قبل أن تتم ترجمته، حيث يمثل الرنا البدئي في حقيقيات النوى طليعة فقط للرنا المرسل الناضج (الشكل 2-5b).

تحتوي معظم جينات حقيقيات النوى على تتاليات غير مرمزة Non-coding Sequences تدعى بالإنترونات Introns تفصل ما بين تتاليات مرمزة Coding يتم التعبير عنها تدعى الإكسونات Exons. وهكذا، في بداية انتساخ جينات حقيقيات النوى يتم انتساخ كامل التتاليات النوكليوتيدية في الجين وتتحول إلى طليعة الرنا المرسال الذي يخضع لاحقاً إلى عملية تدعى بالتضفير Splicing التي تزيل الإنترونات، وتُبقى على الإكسونات في جزيئات الرنا المرسال الناضج لتتم لاحقاً ترجمته في هيولى الخلية.

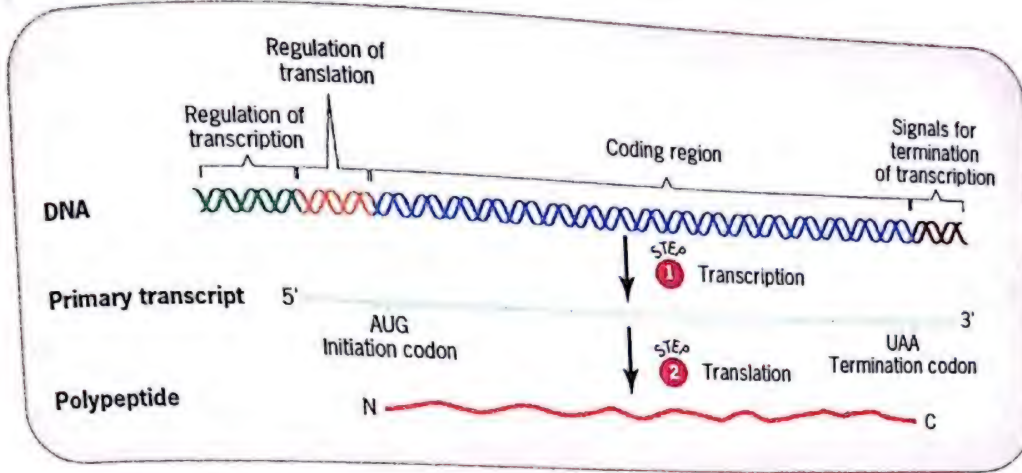
- يصطنع الرنا عبر آلية مشابهة لآلية اصطناع الدنا (خلال تضاعف الدنا، انظر الفصل الرابع)، فيما عدا:
 - تكون ركائز التفاعل هي نوكلئوتيدات ريبية تحتوي على هيدروكسيل في الكربون 2' للريبوز، بدلاً من النوكليوتيدات منقوصة الأكسجين الداخلة في اصطناع الدنا.
 - يستخدم طاق أو شريط واحد من الدنا كمرصاف Template لاصطناع سلسلة الرنا المتممة للتتاليات النوكليوتيدية في جزيء الدنا.
 - يمكن لسلسلة الرنا أن تبدأ دون الحاجة لوجود مشارع Primers، كما هو الحال في اصطناع الدنا الذي يحتاج إلى ذلك.

يكون جزيء الرنا المنتج متّماً ومعاكساً بالقطبية لطاق الدنا المرصاف، ومطابقاً بالتتاليات والقطبية (فيما عدا وجود الأكسجين في الموقع 2' للريبوز) لطاق الدنا غير المرصاف Non-template (الشكل 5-3). وهكذا، يمكننا أن نشير إلى طاق الدنا المرصاف أنه الطاق المُنتسَخ Transcribed Strand للجين، وطاق الدنا غير المرصاف أنه طاق الدنا غير المُنتسَخ Non-transcribed Strand للجين.

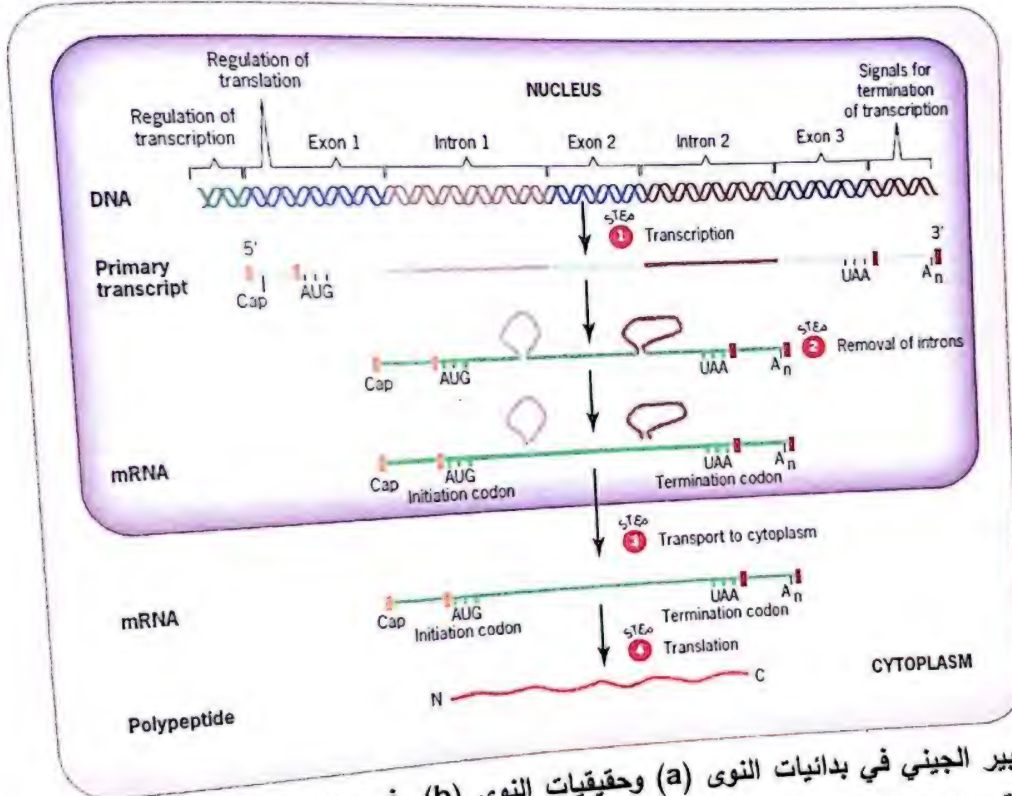
تصطنع سلاسل الرنا، كمثيلاتها في الدنا، في الاتجاه 5' إلى 3'. ويضم التفاعل هجوم هيدروكسيل الكربون 3' للريبوز في نوكلئوتيد الرنا على مجموعة الفوسفات على الكربون 5' في نوكلئوتيد التالي ضمن السلسلة (الشكل 5-4)، ويتوسط هذا التفاعل إنزيم بوليميراز الرنا RNA Polymerase.

يرتبط بوليميراز الرنا إلى تتاليات نوكلئوتيدية نوعية تدعى المحضّضات Promoters وتعمل، أحياناً بمساعدة بروتينات تدعى عوامل الانتساخ Transcription Factors، على البدء باصطناع جزيئات الرنا عند مواقع بدء الانتساخ القريبة من المحضّضات. تكون المحضّضات في حقيقيات النوى أكثر تعقيداً منها في بدائيات النوى. وبينما يقوم بوليميراز رنا وحيد بانتساخ جزيئات الرنا في معظم بدائيات النوى. ثمة خمسة أنواع من بوليميراز الرنا في حقيقيات النوى، كل منها مسؤول عن اصطناع صنف محدّد من الرنا. يحصل اصطناع الرنا عند قطعة من الدنا منفكة الطاقين تدعى بفقاعة الانتساخ Transcription Bubble، تنشأ بفعل بوليميراز الرنا نفسه (الشكل 5-5a).

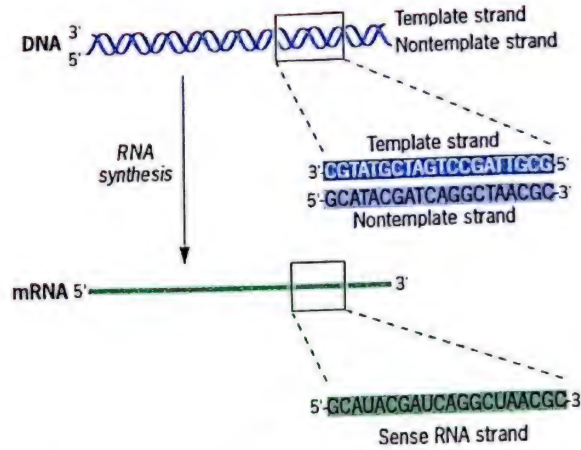
(a) Prokaryotic gene expression



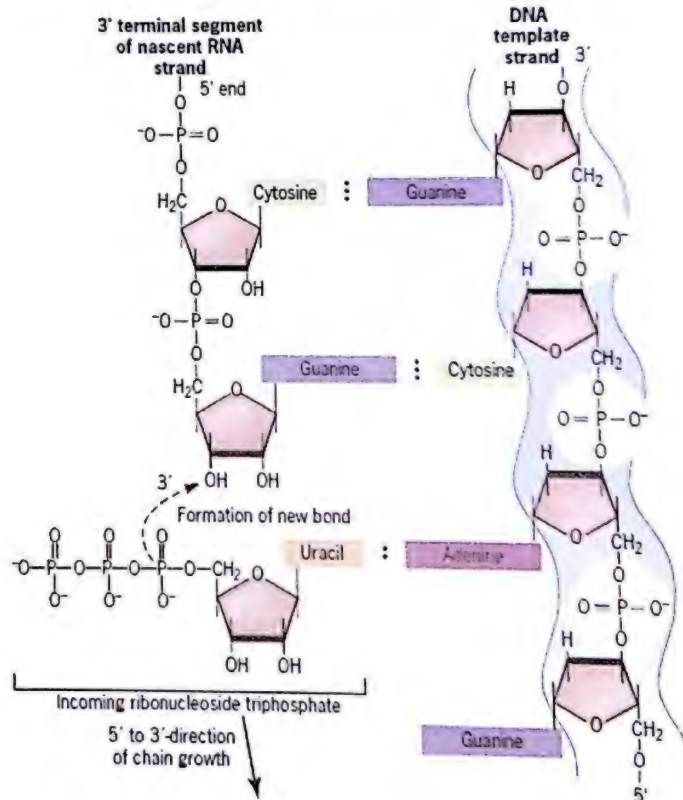
(b) Eukaryotic gene expression



(الشكل 2-5) التعبير الجيني في بدائيات النوى (a) وحقيقيات النوى (b). في بدائيات النوى (a) يكون المنتسخ الأولي للجين قابلاً للترجمة مباشرة على الريباسات، أما في حقيقيات النوى (b) فيخضع المنتسخ الأولي إلى ثلاث عمليات لإنضاجه قبل خروجه من النواة إلى هيولى الخلية هي: إضافة قلنسوة إلى النهاية 5' وذيل من عديد الأدينين إلى النهاية 3' وشطر الإنترونات وتضفير الإكسونات.



(الشكل 3-5) يبين معنى الطاق المرصاف Template Strand والطاق غير المرصاف Nontemplate Strand للدنا، إذ يماثل تسلسل الرنا المنتسخ تسلسل الطاق غير المرصاف (عدا استبدال U والريبوز في RNA بدلاً من T والريبوز منقوص الأكسجين في DNA)، بينما يكون الرنا المنتسخ متما Complementary لتسلسل الطاق المرصاف للدنا.

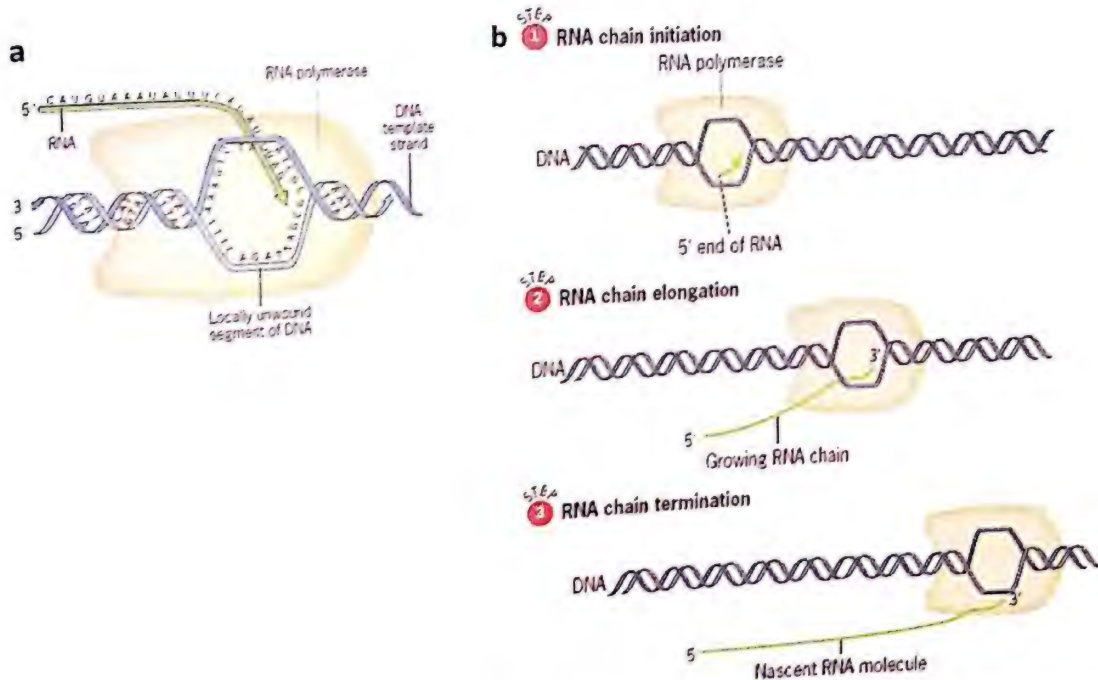


(الشكل 4-5) الجزيء المضاعف المتغاير Heteroduplex الناجم عن الارتباط المؤقت بين الطاق المرصاف للدنا مع سلسلة الرنا الناشئة (تظهر هنا النهاية 3' للسلسلة الناشئة). ويلحظ اتجاه الانتساخ 5' إلى 3' حيث تكون النهاية الحرة

لسلسلة الرنا في الأعلى هي الفسفات، وتكون النهاية في الأسفل هي الهيدروكسيل. يلحظ تشكيل روابط هيدروجينية مؤقتة بين النوكليوتيدات المتتامة C - G، و A - U. وسنفضل فيما يأتي حادثة الانتساخ في كل من بدائيات وحقيقيات النوى.

2.5. الانتساخ في بدائيات النوى Transcription in Prokaryotes

تكون الخصائص الأساسية للانتساخ هي نفسها في كل من بدائيات وحقيقيات النوى، لكن مع اختلاف الكثير من التفاصيل. وقد درس بوليميراز الرنا لجراثيم الإشريكية القولونية E. coli بشكل مكثف وستتم مناقشته هنا، وهو حفز اصطناع جميع أنواع الرنا في هذا النوع. تدعى قطعة الدنا التي تنتسخ لإعطاء جزيء رنا واحد بالوحدة الانتساخية Transcription Unit. مع ذلك، ففي الكثير من أنواع الجراثيم توجد الكثير من جزيئات الرنا الكبيرة التي تحمل التتاليات المرمزة لأكثر من جين. يُمكن تجزئة عملية الانتساخ إلى ثلاث مراحل: (1) البدء باصطناع سلسلة الرنا، (2) إطالة السلسلة، و(3) إنهاء الانتساخ وتحرير جزيء الرنا الناشئ (الشكل 5-5b).



(الشكل 5-5) (a) فقاعة الانتساخ Transcription Bubble الناتجة عن تفكك طاقي الدنا في منطقة صغيرة بتواسط إنزيم بوليميراز الرنا، ويظهر أن القسم الأعظم من جزيء الرنا المنتسخ يمتد خارج المعقد حيث لا يتجاوز طول قطعة الرنا

المرتبطة بالطاق المرصاف عدة نوكلئوتيدات فقط. (b) المراحل الثلاث للانتساخ: (1) البدء (Initiation، 2) الإطالة (Elongation، 3) الإنهاء (Termination).

ملاحظة: لدى مناقشة الانتساخ، يستعمل المصطلحان "صُغداً Upstream" و"تُزلاً Downstream" للدلالة على المناطق التي تقع باتجاه النهاية 5' والنهاية 3'، على التوالي، نسبةً لموقع معين في جزيء الرنا المنتسخ. ويعتمد هذان المصطلحان على حقيقة أن اصطناع الرنا يحدث دائماً بالاتجاه 5' إلى 3'. بالمقابل، تكون المناطق صُغداً وتُزلاً لجين معين هي تتاليات الدنا التي تحدّد القطع 5' (قبل) و 3' (بعد) لجزيء الرنا المنتسخ عن الجين نسبةً لموقع معين داخل الجين.

إن بوليميراز الرنا هو بروتين معقدّ متعدد الأجزاء Multimeric. يبلغ الوزن الجزيئي لبوليميراز الرنا في جراثيم E. coli نحو 480,000 دالتون ويتألف من خمس وُحيدات Subunits، اثنتان منهما متطابقتان، هي $\alpha_2\beta\beta'\sigma$ (اثنتان ألفا، وبيتا، وبيتا فتحة، وسيغما)، التي تشكّل مجمل الإنزيم Holoenzyme. تساعد الوُحيدتان ألفا في تشكيل المعقدّ الرباعي $\alpha_2\beta\beta'$ ، بينما تحتوي الوُحيدة β على موقع الارتباط بالنكليوزيد الرببي ثلاثي الفسفات، وتمتلك الوُحيدة σ المنطقة الرابطة للدنا المرصاف. تتخرط الوُحيدة سيغما فقط في بدء الانتساخ، ولا تؤدي أي دور في طور الإطالة. فبعد بدء الانتساخ مباشرة تتحرر الوُحيدة سيغما وتتواسط الوُحيدات $\alpha_2\beta\beta'$ إطالة السلسلة. وهكذا، تكون مهمة الوُحيدة سيغما هي في التعرف على المحضّض وتوجيه بقية إنزيم بوليميراز الرنا للارتباط به.

1.2.5. طور البدء في بدائيات النوى Initiation Phase in Prokaryotes

تكتنف طور البدء ثلاث خطوات: (1) ارتباط كامل إنزيم بوليميراز الرنا، أو Holoenzyme، إلى منطقة المحضّض في الدنا؛ (2) فك ارتباط طاقي الدنا بتواسط إنزيم بوليميراز الرنا نفسه، حيث يولّد ذلك طاقاً حرّاً من الدنا المرصاف يكون ركيزةً للبدء في اصطناع طاق الرنا المتم له والمعاكس بالقطبية عبر رصف النوكلئوتيدات الريبية (Ribonucleotides؛ 3) تشكيل الروابط الفسفورية ثنائية الإستر Phosphodiester بين النوكلئوتيدات الريبية القليلة الأولى في سلسلة الرنا الجديدة.

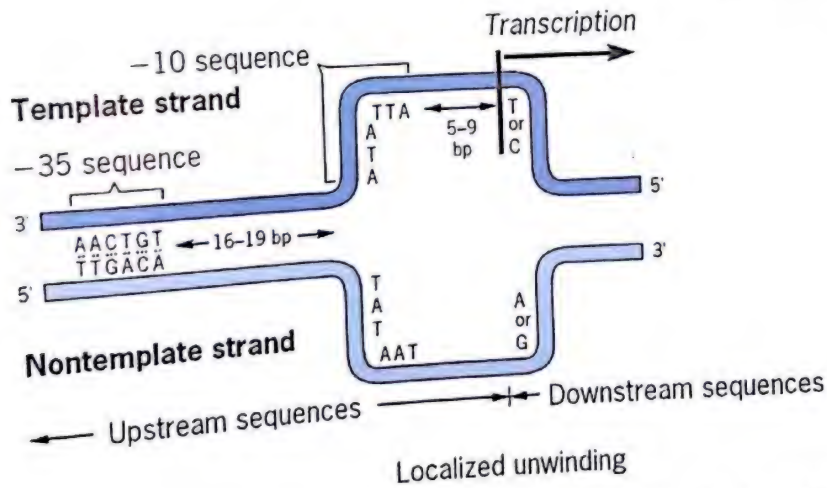
يبقى مجمل الإنزيم Holoenzyme مرتبطاً في منطقة المحضّض خلال اصطناع سلسلة مؤلفة من 8 إلى 9 نوكلئوتيدات رنا، وبعدها يتحرر العامل سيغما ويشرح الإنزيم $\alpha_2\beta\beta'$ بطور الإطالة.

ملاحظة: اصطلاحاً، يتم ترقيم النوكلئوتيدات قرب وحدة الانتساخ نسبةً لموقع بدء الانتساخ، الذي يرقّم +1، وهو أول نوكلئوتيد في النهاية 5' لسلسلة الرنا الناتج عن الانتساخ. تُعطى النوكلئوتيدات السابقة لموقع البدء إشارة سالبة (-) وتلك

التي تلي موقع البدء إشارة موجبة (+). ويشار إلى تتاليات النوكليوتيدات السابقة لموقع البدء بالتتاليات صُغداً Upstream، وتلك التي تلي موقع البدء بالتتاليات نُزلاً Downstream.

حُدِّدَ التتالي النوكليوتيدي لمئات من المحضّضات في صبغي *E. coli*. وبينما لا تتشابه هذه التتاليات فيما بينها كثيراً، يبدو أن منطقتين متماثلتين في جميع المحضّضات كافيتان لتعرّف وارتباط الوَحيدة سيغما والشروع بالانتساخ (الشكل 5-6). تقع النوكليوتيدات التي تتوسّط كل من المنطقتين في الموقع -10 و-35. نسبة لموقع بدء الانتساخ، لذا، وفي كثير من الأحيان تدعى هاتان المنطقتان بالمنطقة -10 والمنطقة -35. وعلى الرغم من وجود بعض الاختلافات في تتاليات النوكليوتيدات في كل من هاتين المنطقتين فيما بين مئات المحضّضات، تتشارك كل منطقة منهما مع مثيلاتها في المحضّضات الأخرى ببعض النوكليوتيدات المُصانة Conserved Nucleotides، حيث تدعى هذه التتاليات المتماثلة بالتتاليات المُصانة Consensus Sequences.

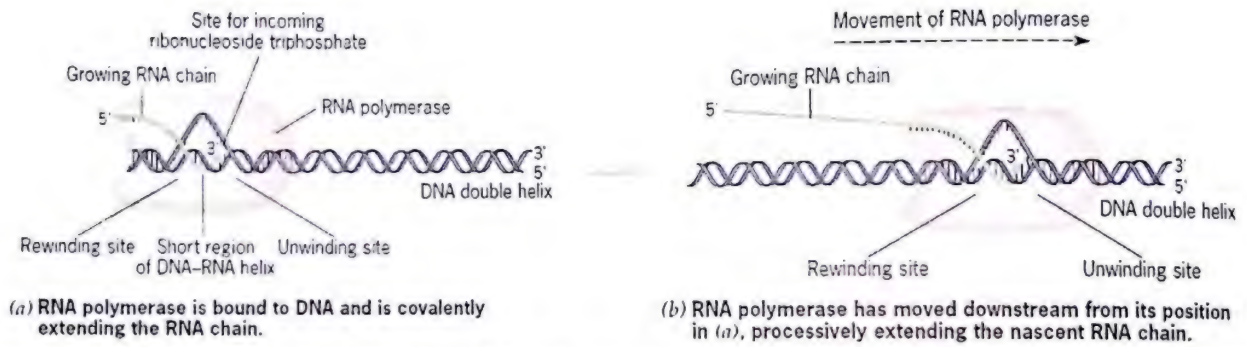
يكون التتالي المُصان في المنطقة -10 من الطاق غير المرصاف Non-template Strand هو TATAAT، والتتالي المُصان في المنطقة -35 هو TTGACA. تتعرف الوَحيدة سيغما أولاً وترتبط على التتالي -35، بينما يسهل التتالي -10 الغني بالأدينين والثايمين عملية فك ارتباط طاقى الدنا (بسبب كون عدد الروابط الهيدروجينية بين A و T هو اثنان فقط).



(الشكل 5-6) منطقة المحضّض في بدائيات النوى وبدء تشكيل فقاعة الانتساخ. وتظهر التتاليات في المنطقتين -35 (TTGACA) و-10 (TATAAT) في الطاق غير المرصاف من الدنا، بينما يظهر موقع بدء الانتساخ في الطاق المرصاف ويكون عادةً إما T أو C. تدعى التتاليات السابقة لموقع بدء الانتساخ بالتتاليات صُغداً Upstream والتتاليات اللاحقة لموقع البدء بالتتاليات نُزلاً Downstream.

2.2.5. طور الإطالة في بدائيات النوى Elongation Phase in Prokaryotes

يحتوي بوليميراز الرنا على فعالية تفكيك Unwinding وإعادة ربط Rewinding لطاقي الدنا. وبشكل مستمر، يقوم بوليميراز الرنا بتفكيك طاقي الدنا أمام موقع الانتساخ وإعادة ربطهما خلف موقع الانتساخ خلال مسيره على جزيء الدنا (الشكل 5-7). يكون متوسط طول فقاعة الانتساخ في جراثيم E. coli نحو 18 زوجاً نوكلئوتيدياً، حيث تتم إضافة نحو 40 نوكلئوتيداً ريبياً في كل ثانية إلى سلسلة الرنا المتشكلة المتزايدة في الحجم. إن ارتباط نوكلئوتيدات الرنا المصنعة مع نوكلئوتيدات دنا المرصاف المتممة لها هو ارتباط ضعيف، إذ لا ترتبط سلسلة الرنا المتشكلة بالدنا المرصاف لوقت طويل بل تنفك عنها وتبرز إلى خارج فقاعة الانتساخ، ولا تبقى سوى بضعة نوكلئوتيدات من الرنا مرتبطة بشكل مؤقت مع النوكلئوتيدات المتممة لها في طاق الدنا المرصاف في أي مرحلة من عملية الإطالة.



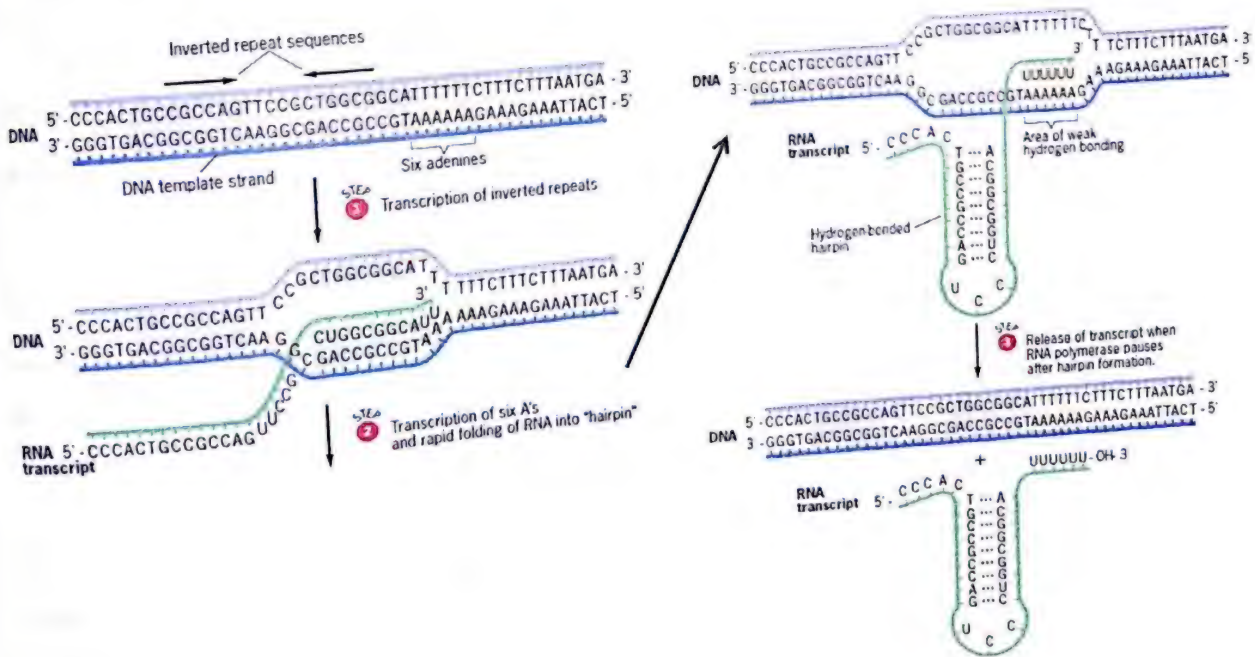
(الشكل 5-7) مرحلة إطالة الانتساخ. وتبدو حركة إنزيم بوليميراز الرنا نزلاً Downstream نسبةً إلى موقع بدء الانتساخ وبالاتجاه 5' إلى 3' لسلسلة الرنا المنتسخة.

3.2.5. طور الإنهاء في بدائيات النوى Termination Phase in Prokaryotes

يحصل إنهاء الانتساخ حين تصل سلسلة الرنا المتشكلة إلى ما يدعى إشارة الإنهاء Termination Signal، حيث يتفكك معقد الانتساخ محرراً جزيء الرنا. هنالك نمطان من منهيّات الانتساخ Transcription Terminators في جراثيم E. coli؛ يؤدي أحدهما إلى الإنهاء فقط بوجود عامل بروتيني يدعى العامل Rho (أو ρ)، ولذلك يدعى بالإنهاء المعتمد على العامل Rho أو Rho-dependent Termination، بينما لا يتطلب النمط الآخر العامل Rho ويكون مستقلاً عنه Rho-independent Termination.

تحتوي المنهيات المستقلة عن العامل Rho منطقة غنية بالguanines والسيتوزين GC-rich Region تتبعها ستة نوكلوتيدات أو أكثر من تتاليات الأدينين والثايمين، حيث يكون الأدينين في الطاق المرصاف (الشكل 5-8). يحتوي التسلسل الغني بـ GC على تتاليات مقلوبة (أي تتاليات نوكلوتيدية توجد في كل طاق على حدة تكون مقلوبة ومتتامة). ولدى انتساخ تتاليات الدنا هذه، ينتج عنها طاق رنا يحتوي على التتاليات المقلوبة التي تتشافع فيما بينها داخل الطاق نفسه مشكلة بنية تدعى ببنية ملقط الشعر Hairpin Structure. تتشكل بنية ملقط الشعر مباشرة بعد اصطناع هذه المنطقة، وتؤخر حركة جزيء بوليميراز الرنا على طول الدنا المرصاف، مما يؤدي إلى إيقاف الإطالة. وعلى اعتبار التتاليات اللاحقة لهذه المنطقة غنية بـ AU، ومن ثم فقيرة بالروابط الهيدروجينية فيما بين الرنا ومرصاف الدنا، يمكن للرنا عندها أن ينفك عن الدنا المرصاف محرراً نفسه من معقد الانتساخ ومنهياً بذلك عملية الانتساخ نفسها.

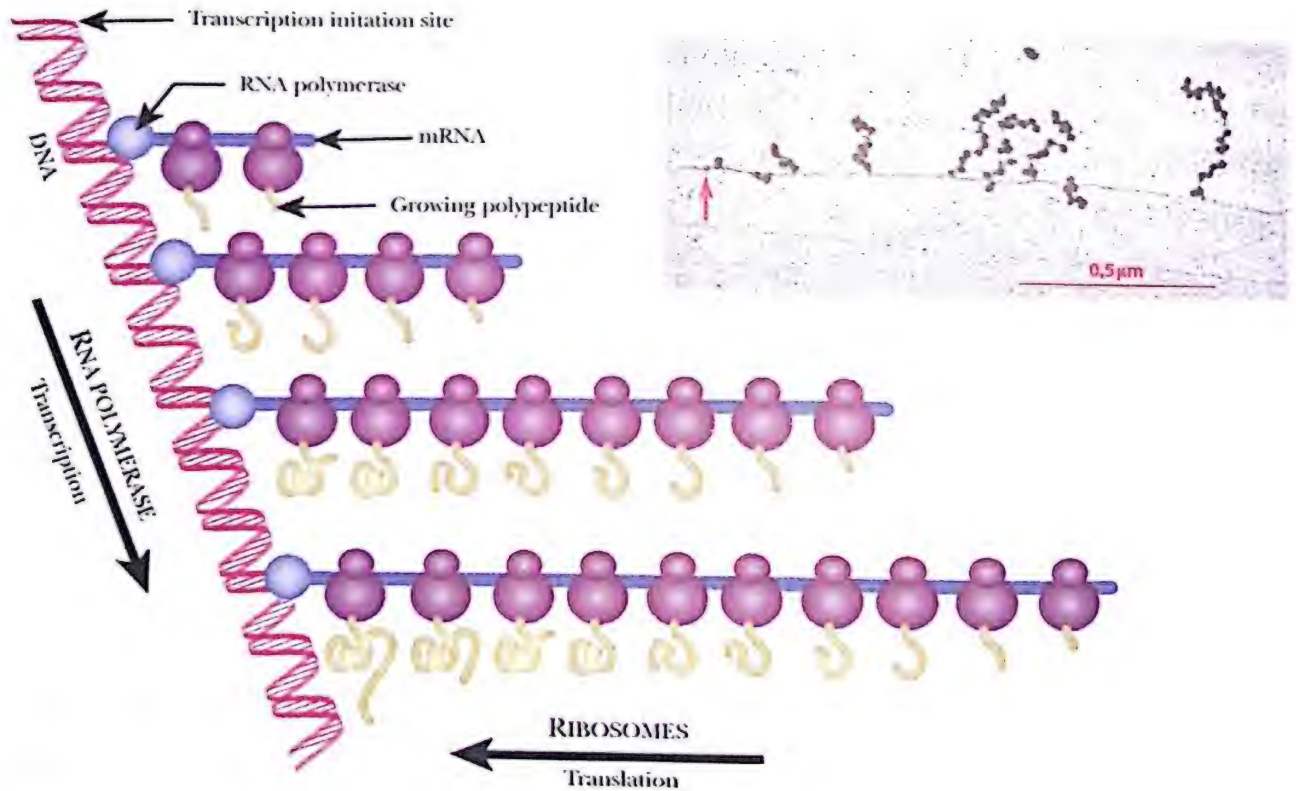
يكون إنهاء الانتساخ المعتمد على العامل Rho مماثلاً لما سبق، وتتشكل أيضاً بنية ملقط الشعر صُعداً بالنسبة لموقع إنهاء الانتساخ. مع ذلك، يكون الاختلاف هو في ارتباط العامل Rho بجزيء الرنا في موقع سابق "صُعداً" بالنسبة لبوليميراز الرنا، حيث يتحرك العامل Rho وراء بوليميراز الرنا على طول سلسلة الرنا المتشكلة بالاتجاه 5' إلى 3'. وحين يصل بوليميراز الرنا إلى بنية ملقط الشعر السابق ذكرها يتوقف ليلحق به العامل Rho ويقوم بتفكيك الروابط الهيدروجينية المؤقتة بين جزيئي الرنا والدنا محرراً بذلك الرنا من معقد الانتساخ.



(الشكل 5-8) إنهاء الانتساخ المستقل عن العامل Rho. تلاحظ التسلسلات المصونة في طاق الدنا المرصاف التي لدى انتساخها تشكّل في جزيء الرنا المنتسخ تسلسلات متقابلة ومتممة بعضها لبعض ترتبط لتشكّل بنية ملقط الشعر. كما يلاحظ وجود عدد من نوكليوثيدات اليوراسيل المتتالية نزلًا نسبةً لبنية ملقط الشعر، وتؤدي إلى سهولة تحرّر جزيء الرنا من الدنا المرصاف وإنهاء الانتساخ.

4.2.5. تزامن الانتساخ والترجمة وتدرّك الرنا المرسال في بدائيات النوى

في بدائيات النوى، تبدأ عمليتا الترجمة وتدرّك الرنا المرسال المصطنع غالباً قبل أن ينتهي انتساخ الرنا نفسه. وحيث إنّ اصطناع جزيئات الرنا المرسال وترجمتها وتدرّكها، كل ذلك يحصل بالاتجاه $5'$ إلى $3'$ ، يمكن لهذه الأحداث أن تتزامن على نفس جزيء الرنا. ومن المهم التذكير أنه في بدائيات النوى لا يوجد أي فصل بين الهيولى وجزيء الدنا لغياب النواة والغلاف النووي. وهكذا، وبمجرد أن تُصنّع النهاية $5'$ من جزيء الرنا فإنها تُستخدم كمرصاف لاصطناع البروتين. في الواقع، يقترن ويتزامن الانتساخ والترجمة بشكل مذهل في بدائيات النوى، وقد أظهرت ذلك بعض الصور الملتقطة باستخدام المجهر الإلكتروني (الشكل 5-9).



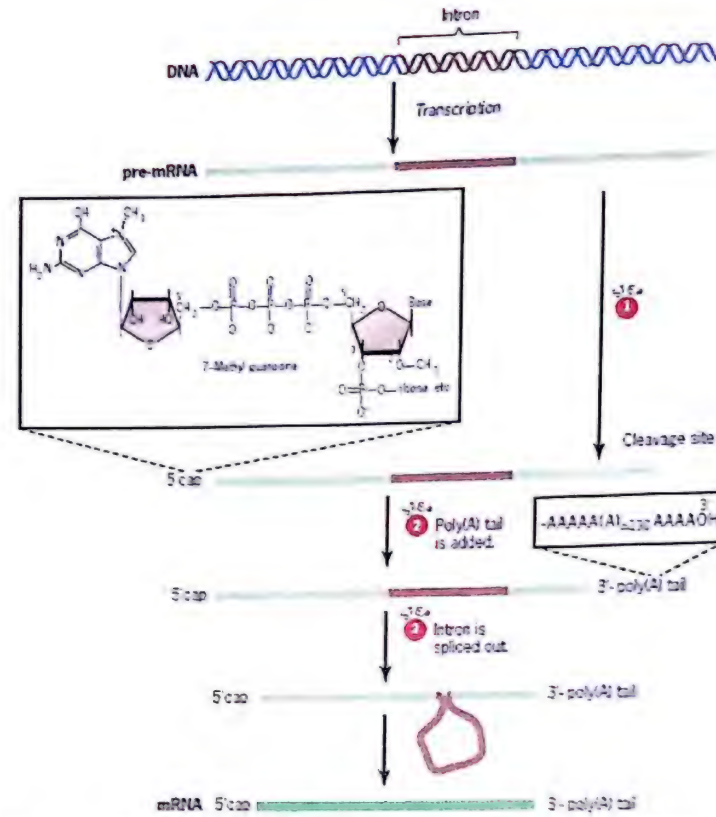
(الشكل 5-9) تزامن الانتساخ والترجمة في بدائيات النوى. مع ازدياد طول سلسلة الرنا المنتسخ تبدأ الريباسات بالانصاف على النهاية 5' لجزيء الرنا وتشرع بترجمته لتسير بالاتجاه 5' إلى 3' لجزيء الرنا مع ازدياد طول عديد الببتيد المتشكل. يظهر في الشكل (أعلى يمين) صورة مجهرية إلكترونية تبين توضع الريباسات على جزيئات الرنا المنتسخة، حيث يبدو واضحاً ازدياد طول قطع الرنا المنتسخة من اليسار إلى اليمين. يشير السهم الأحمر إلى موقع بدء الانتساخ.

3.5. الانتساخ ومعالجة الرنا في حقيقيات النوى Transcription & RNA Processing in Eukaryotes

على الرغم من أن اصطناع الرنا متماثل في بدائيات وحقيقيات النوى، إلا أنه أكثر تعقيداً إلى حد بعيد في الأخيرة. ففي حقيقيات النوى، يصطنع الرنا في النواة، ثم تُنقل جزيئات الرنا المرسال التي ترمز البروتينات إلى هيولى الخلية حيث تتم ترجمتها على الريباسات.

كثيراً ما تحتوي جزيئات الرنا المرسال في بدائيات النوى على المناطق المرمزة لجينتين أو أكثر، وتدعى جزيئات الرنا هذه بمتعددة الجينات Multigenic. على العكس من ذلك، فإن الغالبية العظمى من المُنْتَسَخَات Transcripts (أي نواتج الانتساخ) تحتوي في حقيقيات النوى المنطقة المرمزة لجين واحد لا غير، وهي بذلك وحيدة الجين Monogenic.

توجد خمسة أنواع من بوليميرازات الرنا في حقيقيات النوى، يحفز كل منها انتساخ صنف محدد من الجينات. إضافة لذلك، تخضع معظم المنتسَخَات البدئية للجينات التي ترمز البروتين إلى ثلاثة تعديلات أساسية قبل انتقالها إلى هيولى الخلية (الشكل 5-10).



(الشكل 5-10) التعديلات الثلاثة التي تجري على جزيء الرنا المرسال البدئي Pre-mRNA في حقيقيات النوى. (1) إضافة قلنسوة 7MG Cap إلى النهاية 5' للرنا المرسال، (2) إضافة ذيل عديد الأدنين إلى النهاية 3' للرنا المرسال، و(3) شطر تسلسلات الإنترونات (باللون البنّي) من جزيء الرنا المرسال البدئي وخلو الرنا المرسال الناضج mRNA من هذه التسلسلات.

1. إضافة قلنسوة عند النهاية 5' للمنتسخ مؤلفة من 7 ميثيل غوانوزين 7-Methy Guanosine

أو (7MG)، إذ يرتبط 7MG مع المنتسخ عبر رابط فوسفاتي 5' إلى 5'.

2. إضافة ذيول عديد الأدنين Poly(A) Tails إلى النهاية 3' للمنتسخ، التي تتولد عبر الشطر بدلاً

من إنهاء الانتساخ، وتنتهي بإضافة عدد من الأدنين يتراوح بين 20 إلى 200 نوكليويد.

3. وفي حال وجودها، يتم تضفير Splicing تتاليات الإنترونات خارج المنتسخ البدئي.

في حقيقيات النوى، تدعى جُمُيعَة المنتسَخات الأولية في النواة بالرنا النووي غير المتجانس Heterogeneous Nuclear RNA أو hnRNA بسبب التباين الكبير في أطوال جزيئات الرنا الموجودة لاحتواء معظمها على الإنترونات متباينة الطول. إضافةً لذلك، تغطّي منتسَخات الرنا في حقيقيات النوى بروتينات رابطة للرنا خلال أو بعد اصطناعها مباشرة. تحمي هذه البروتينات منتسَخات الجينات من التدرّك

Degradation أنزيمات الريبونوكلياز المحللة للـ RNA Hydrolyzing Ribonucleases، وذلك خلال تقطيع ونقل الرنا إلى الهيولى. يبلغ متوسط نصف عمر منتسخ الجين في حقيقيات النوى نحو 5 ساعات، على عكس متوسط عمره في بدائيات النوى البالغ 5 دقائق فقط، ويعود ذلك جزئياً على الأقل إلى ارتباط البروتينات المكثف على الرنا في حقيقيات النوى.

خمس أنواع لبوليميراز الرنا وخمس مجموعات من الجينات

بينما يحفز إنزيم بوليميراز رنا وحيد الانتساخ في بدائيات النوى، تمتلك جميع حقيقيات النوى ما بين 3 إلى 5 أنواع من بوليميرازات الرنا مع كون هذه الكائنات تتراوح بين وحيدات الخلية كفطر الخميرة وبين الإنسان. توجد 3 إنزيمات تدعى بوليميراز الرنا (RNA Pol I, II, III) في جميع حقيقيات النوى، وجميعها تمتلك 10 وُحيدات أو أكثر وتكون أكثر تعقيداً من بوليميراز الرنا الوحيد في جراثيم *E. coli*. إضافة لذلك، وبشكل مغاير لبدايات النوى، تحتاج جميع بوليميرازات حقيقيات النوى إلى مساعدة بروتينات أخرى تدعى بعوامل الانتساخ Transcription Factors حتى تبدأ اصطناع سلاسل الرنا. يبين (الجدول 1-5) الخصائص الأساسية لبوليميرازات الرنا الخمس في حقيقيات النوى.

(الجدول 1-5) خصائص بوليميرازات الرنا الخمس في حقيقيات النوى

Enzyme	Location	Products
RNA polymerase I	Nucleolus	Ribosomal RNAs, excluding 5S rRNA
RNA polymerase II	Nucleus	Nuclear pre-mRNAs
RNA polymerase III	Nucleus	tRNAs, 5S rRNA, and other small nuclear RNAs
RNA polymerase IV	Nucleus (plant)	Small interfering RNAs (siRNAs)
RNA polymerase V	Nucleus (plant)	Some siRNAs plus noncoding (antisense) transcripts of siRNA target genes.

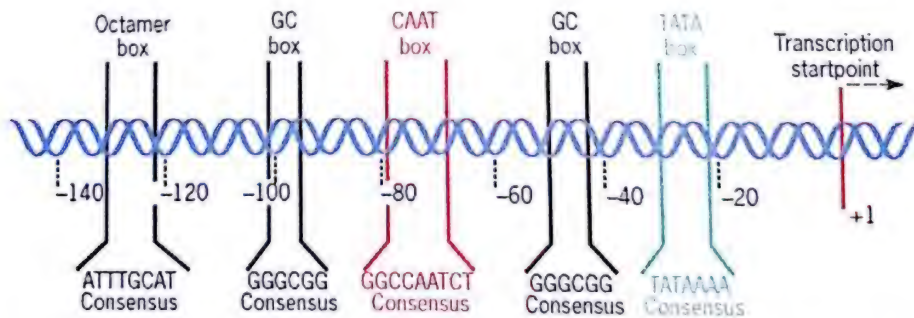
يوجد Pol I في النوية Nucleolus إذ يحفز اصطناع جزيئات الرنا الريباسي rRNA باستثناء أحدها وهو 5S rRNA. ينسخ إنزيم Pol II الجينات النووية التي ترمز البروتينات، بينما يحفز إنزيم Pol III اصطناع الرنا جزيئات الناقل وجزيئات 5S rRNA إضافة إلى جزيئات الرنا النووي الصغير Small Nuclear RNAs. وحتى يومنا هذا، تم التعرف على إنزيمي Pol IV و Pol V فقط في النباتات، مع بعض الأدلة على وجودهما في الفطور. يقوم هذان الإنزيمان الأخيران بكبت التعبير عن بعض الجينات عبر عملية إعادة نمذجة الكروماتين Chromatin Remodeling (انظر الفصل السابع). يقوم Pol IV باصطناع منتسحات تقطع إلى قطع صغيرة من الرنا، وتدعى جزيئات الرنا المتداخل الصغير Small Interfering

RNAs أو (siRNAs) وهي منظّمات مهمة للتعبير الجيني. من جهة أخرى، يقوم Pol V بتصنيع مجموعة من siRNAs ومن منتسخات الجينات غير امرّزة التي يتم تنظيمها من قبل siRNAs.

1.3.5. طور البدء في حقيقيات النوى Initiation Phase in Eukaryotes

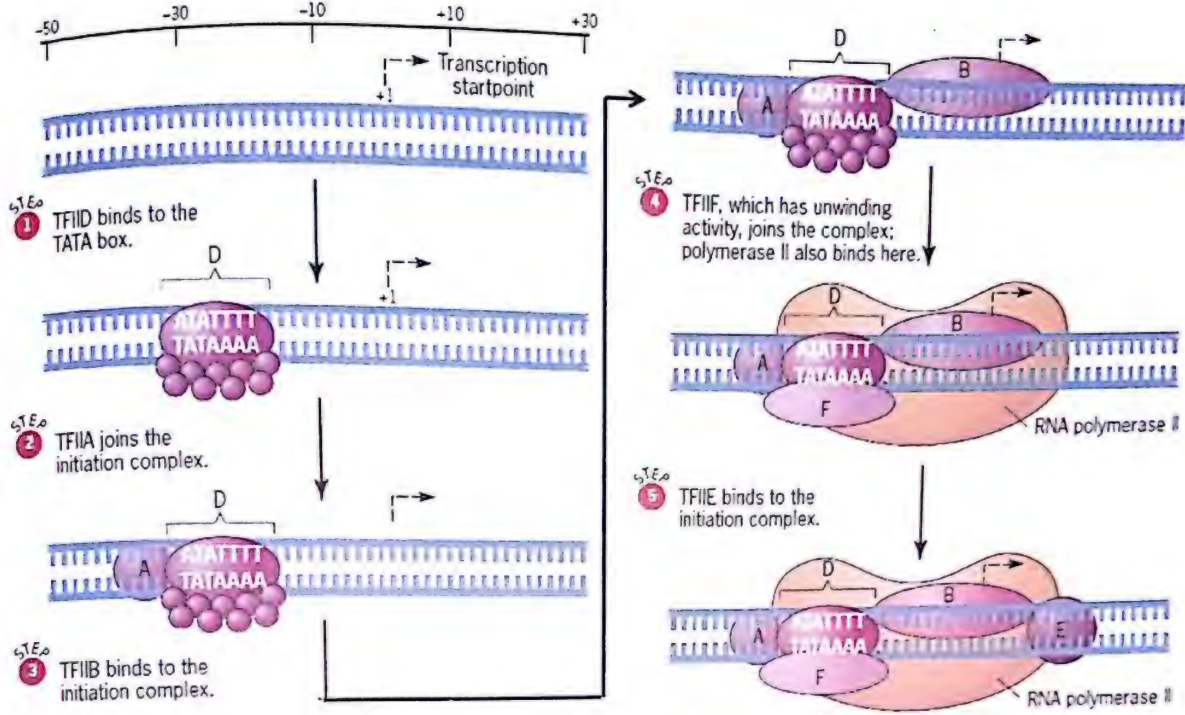
لا يمكن لبوليميرازات حقيقيات النوى البدء بالانتساخ وحدها. وفي الواقع، يجب أولاً أن ترتبط عوامل الانتساخ إلى منطقة المحضّض في الدنا وتُشكّل معقّد البدء المناسب قبل ارتباط إنزيم بوليميراز الرنا وبدء الانتساخ. تُستخدم بوليميرازات الرنا محضّضات Promoters وعوامل انتساخ مختلفة، وسنركّز هنا على البدء بالانتساخ الرنا المرسل البدئي المصطنع من قبل Pol II، الذي ينتسخ الغالبية العظمى من جينات حقيقيات النوى. وفي جميع الأحوال، يكتنف البدء بالانتساخ تشكيل قطعة من الدنا منفصلة الطاقين، الأمر الذي يتطلب تأثراً فيما بين عدة عوامل انتساخ مع تتالياتها النوعية في منطقة المحضّض.

تتألف المحضّضات التي يستخدمها إنزيم Pol II من عناصر مُصانة Conserved قصيرة متوضّعة صُعداً نسبةً لنقطة بداية الانتساخ. يُظهر (الشكل 5-11) محضّضاً لجين الثيميدين كيناز. يدعى التتالي المُصان الأقرب إلى موقع البدء بالانتساخ بصندوق تاتا TATA Box، والمؤلف من التتالي TATAAAA الموجود على الطاق غير المرصاف ويقع بين الموقعين -20 إلى -40 من موقع البدء. يؤدي صندوق TATA دوراً هاماً في تحديد موقع بدء الانتساخ. ويدعى العنصر الآخر المُصان بصندوق كات CAAT Box، المؤلف من التتالي GGCCAATCT ويقع قرب الموقع -80. وهناك عنصران مُصانان آخران هما صندوق GC Box وصندوق الثمانية Octamer Box، التي تؤثر جميعاً في فعالية المحضّض في البدء بالانتساخ. يتطلب الانتساخ أنزيم Pol II مساعدةً من عدة عوامل انتساخ أساسية Basic TFs. مع ذلك، تقوم عوامل انتساخ أخرى وتتاليات تدعى المعززات Enhancers والمُسكّكات Silencers بتعديل فعالية بدء الانتساخ (انظر الفصل السابع).



(الشكل 5-11) التتاليات المُصانة في محضّضات حقيقيات النوى مع مواقعها صُعداً نسبةً لموقع بدء الانتساخ +1.

تُعتمد فعالية الانتساخ على تأثر عوامل الانتساخ الأساسية مع المحضّضات وفق ترتيب محدد (الشكل 5-12). تسمى هذه العوامل TFII(X)، إذ يرمز TF إلى عامل الانتساخ و II إلى بوليميراز الرنا و X إلى نوع العامل.



(الشكل 5-12) مراحل تشكيل معقد بدء الانتساخ في حقيقيات النوى. (1) يرتبط TFIID إلى صندوق TATA، (2) يلي ذلك ارتباط TFIIA ومن ثم (3) TFIIB و (4) TFIIF وأخيراً (5) TFIIE.

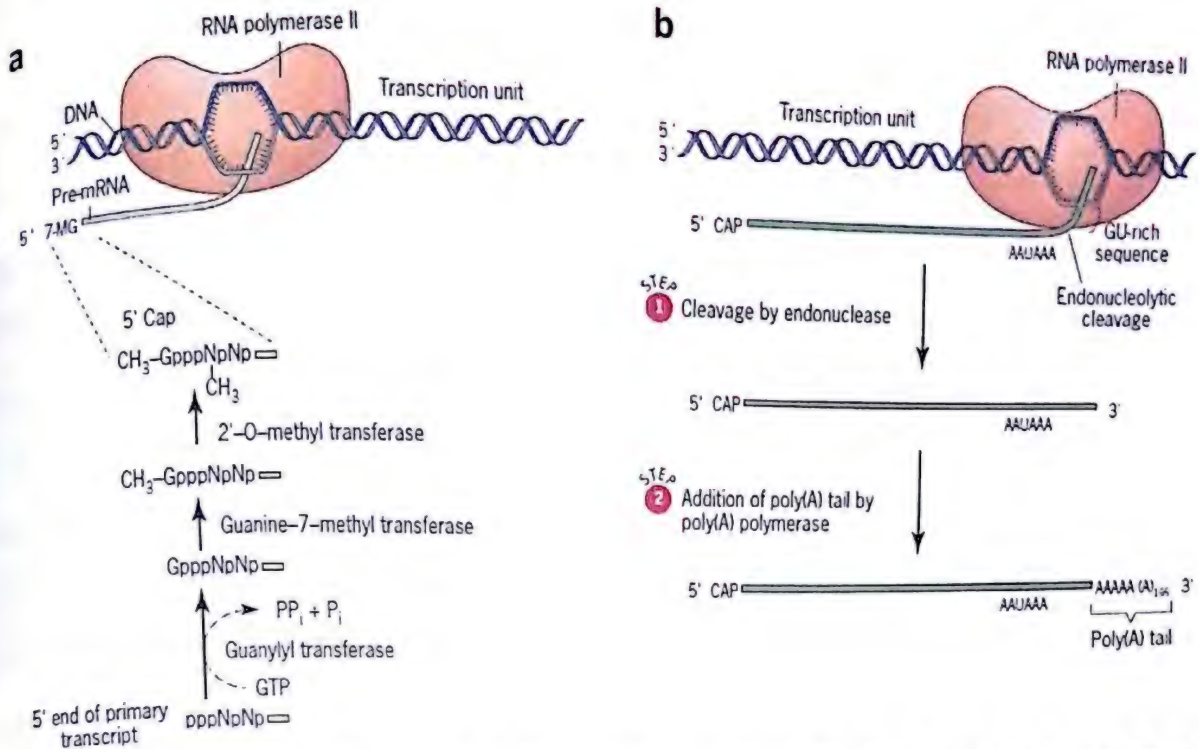
يكون العامل TFIID هو أول عوامل الانتساخ الذي يرتبط بالمحضّض لاحتوائه على بروتين رابط لصندوق التآتا يدعى TATA-Binding Protein أو (TBP). إثر ذلك، يرتبط العامل TFIIA ومن ثم TFIIB. يرتبط العامل TFIIF أولاً بإنزيم بوليميراز الرنا ومن ثم يرتبط معقد البوليميراز مع TFIIF مع كامل المعقد المرتبط مسبقاً في منطقة المحضّض. يمتلك TFIIF قدرة على فصل طاقى الدنا عند موقع بدء الانتساخ. يرتبط إثر ذلك العامل TFIIE. يرتبط أخيراً العاملان TFIIF و TFIIE. يمتلك TFIIF خاصية إنزيم Helicase المفكك للروابط الهيدروجينية بين طاقى الدنا ويرحل مع إنزيم بوليميراز الرنا على طول القطعة المنسّخة خلال طور الإطالة، حيث يقوم بفك طاقى الدنا أمام إنزيم البوليميراز.

2.3.5. إطالة سلسلة الرنا وإضافة قلنسوة من 7 ميثيل غوانوزين 7MG في النهاية 5'

حالما يتحرر إنزيم بوليميراز الرنا من معقّد بدء الانتساخ فإنه يحفز إطالة سلسلة الرنا بشكل مماثل لما ذكر أعلاه بالنسبة لبدائيات النوى. يتم تعديل النهاية 5' من الرنا المرسال البدئي عبر إضافة قلنسوة 7 ميثيل غوانوزين 7MG باكراً جداً خلال طور الإطالة عندما يبلغ طول سلسلة الرنا الناشئ نحو 30 نوكلوتيداً فقط (الشكل 5-13a). تقوم هذه القلنسوة بحماية سلسلة الرنا من التدرّك بإنزيمات النكلياز Nucleases كما أنها ضرورية لربط عدة عوامل بروتينية والمساعدة في عملية ترجمة الرنا في الهيولى (انظر الفصل السادس).

3.3.5. إنهاء سلسلة الرنا عبر شطر السلسلة وإضافة ذيول عديد الأدينين Poly A Tails

يتم إنتاج النهاية 3' لمُنتسخ الرنا المصطنع أنزيم Pol II عبر الشطر الإنزيمي داخل سلسلة الرنا بدلاً من إنهاء الانتساخ (الشكل 5-13b). في الحقيقة، يستمر الانتساخ نحو 1000 إلى 2000 نوكلوتيد نُزلاً Downstream من الموقع الذي سيصبح لاحقاً النهاية 3' للرنا المرسال الناضج قبل إضافة ذيول الأدينين. يحصل شطر الرنا المرسال في النهاية 3' عند موقع يكون 11 إلى 30 نوكلوتيداً نُزلاً من موقع إشارة مُصان لإضافة عديد الأدينين هو AAUAAA وصُعداً من تسلسل غني بالغوانين واليوراسيل GU-Rich عند نهاية المنتسخ. وبعد الشطر، يضيف إنزيم Poly A Polymerase ذيول الأدينين، وهي عبارة عن تسلسل من نوكلوتيدات الأدينين فقط يصل طوله نحو 200 نوكلوتيداً، إلى النهاية 3' لمُنتسخ الرنا (الشكل 5-13b). تعرّز ذيول عديد الأدينين في جزيئات الرنا المرسال عند حقيقيات النوى ثباتية هذه الجزيئات، وتؤدي دوراً مهماً في نقلها خارج النواة إلى الهيولى.

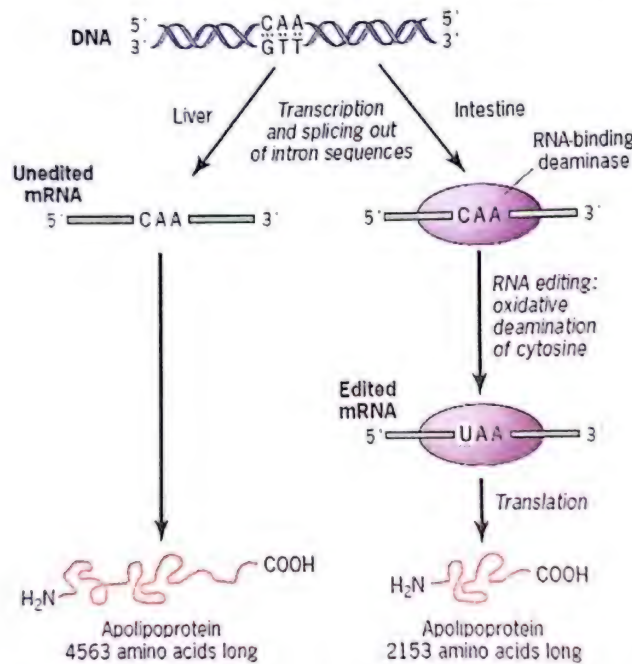


(الشكل 5-13. a) إضافة 7MG إلى النهاية 5' لجزيء الرنا المرسال البدني. يقوم إنزيم Guanylyl Transferase أولاً بنقل الغوانين من GTP وريطه مع أول نوكلئوتيد في النهاية 5' برابطة فسفورية ثنائية الإستر من النوع 5' إلى 5'. إثر ذلك، يتوسط إنزيم Guanine-7-Methyl Transferase بإضافة جذر ميثيل إلى الكربون 7 للغوانين، وأخيراً يضيف إنزيم 2'-O-Methyl Transferase عادةً جذر ميثيل آخر إلى النوكلئوتيد التالي للغوانين. (b) إضافة ذيل الأدنين في النهاية 3' التي تتم على مرحلتين؛ الأولى هي شطر جزيء الرنا البدني نزلاً من الموقع AAUAAA بتوسط إنزيم شطر داخلي Endonuclease، والثانية هي إضافة ذيول الأدنين إلى النهاية 3' بتوسط إنزيم Poly A Polymerase.

4.3.5. تحرير الرنا RNA Editing: تغيير محتوى المعلومات في جزيئات الرنا المرسال

تبعاً للمسلمة المركزية كما رأينا أعلاه، تعبر المعلومات الجينية من الدنا إلى الرنا إلى البروتين خلال التعبير الجيني، وعادةً لا يتم تعديل أي من المعلومات خلال هذه العملية. لكن اكتشاف آلية تحرير الرنا RNA Editing أبرز أن هنالك استثناءات للقاعدة العامة. تعدل آلية تحرير الرنا من محتوى منتسَخات الجينات بطريقتين: (1) عبر تغيير بنى الأسس النوكلئوتيدية، و(2) عبر إضافة أو حذف نوكلئوتيد اليوراسيل. ينتج عن النمط الأول من التعديلات استبدال أحد الأسس النوكلئوتيدية بغيره، ويتم ذلك نادراً. وفهم هذه الآلية نضرب مثلاً اكتشاف لدى دراسة الجينات المرمزة لبروتين صميم (طليعة) البروتين الشحمي ب Apolipoprotein-B والرنا المرسال الناتج عنها في كل من الأرانب والإنسان. تقوم طلائع البروتينات

الشحمية الموجودة في الدم بنقل أنواع محدّدة من جزيئات الدسم في جملة الدوران مثل الكوليسترول والأحماض الدسمة. في الكبد، يرمّز الرنا المرسال لجين apo-B بروتيناً كبير الوزن الجزيئي مؤلفاً من 4563 حمضاً أمينياً، بينما يرمّز نفس الرنا المرسال في الأمعاء بروتيناً يتألف من 2153 حمضاً أمينياً فقط. في الأمعاء يتحوّل أحد نوكلئوتيدات السيتوزين في منتسخ الرنا إلى يوراسيل بحيث يخلق رامز هو أحد روامز التوقف Stop Codons التي توقف ترجمة البروتين، ويؤدي إلى إنتاج البروتين الأصغر حجماً (الشكل 5-14). يتم قلب السيتوزين إلى اليوراسيل عبر بروتين مرتبط بتسلسل نوعي على الرنا، إذ يقوم بإزالة المجموعة الأمينية من السيتوزين محولاً إياه إلى يوراسيل.



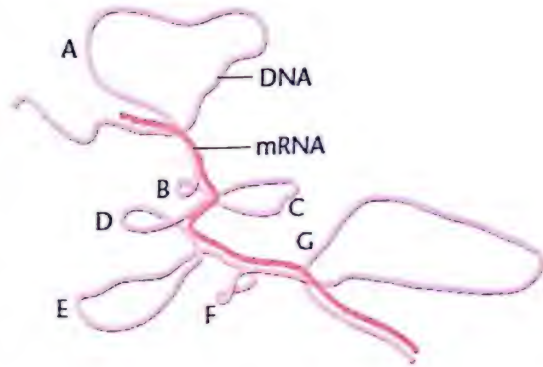
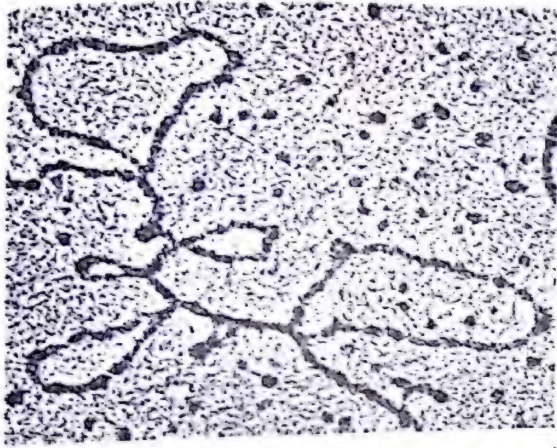
(الشكل 5-14) تحرير الرنا RNA Editing في صميم البروتين الشحمي ApoB في الأمعاء. ينتج عن ترجمة المنتسخ الناضج (غير المحرّر Unedited) في الكبد بروتين بطول 4563 حمضاً أمينياً، بينما يرتبط أحد إنزيمات إزالة الأمين Deaminase في الأمعاء بالرامز CAA محولاً إياه إلى UAA، وهي إحدى شيفرات توقف الترجمة، مما يؤدي إلى إنتاج بروتين بطول 2153 حمضاً أمينياً فقط في الأمعاء ناتجاً عن ترجمة نفس منتسخ الجين الأولي في الكبد.

5.3.5. الجينات المتقطعة في حقيقيات النوى: الإكسونات Exons والإنترونات Introns

يعود التمييز بين التسلسلات المنتسخة والمترجمة (الإكسونات) وبين التسلسلات المنتسخة وغير المترجمة (الإنترونات) إلى العام 1977، إذ لوحظ وجود تسلسلات موجودة في بنية الرنا المرسال البدئي Pre-mRNA لجين البيتا غلوبين β -globin في الأرانب وغائبة في الرنا المرسال الناضج Mature mRNA

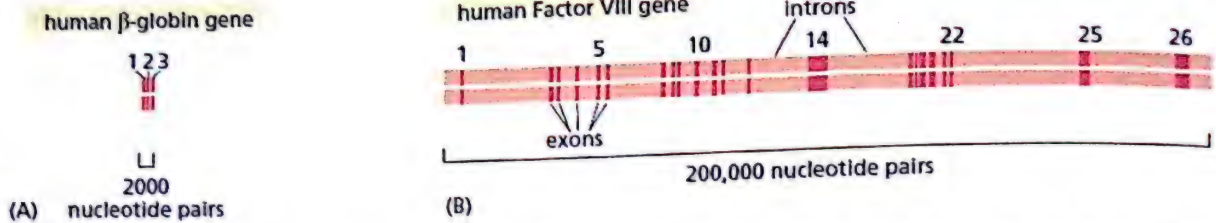
الخاص بها الذي يترجم في الهيولى، أطلق عليها الإنترونات **Introns** اختصاراً لمعنى التسلسلات المتداخلة **Intervening Sequences**، بينما أطلق على باقي التسلسلات الإكسونات **Exons** تمييزاً لمعنى التسلسلات المعبر عنها **Expressed Sequences**.

يمكن تحديد مواقع الإنترونات في إحدى الجينات التي تحويها عبر تهجين سلسلة الرنا المرسال الناضج مع دنا الجين نفسه، إذ يزيح الرنا المرسال بشروط تهجين خاصة أحد طاقى الدنا ليرتبط بدلاً عنه الرنا مع تسلسله المتمم. يؤدي ذلك إلى ظهور عدد من العرى **Loops** التي تمتد خارج شريط الدنا التي يتساوى عددها مع عدد الإنترونات، إذ ترتبط سلسلة الرنا المرسال الناضج فقط مع تسلسلات الإكسونات مزيجةً تسلسلات الإنترونات التي لا تتجهن معها إلى خارج جزيء الدنا (الشكل 5-15).



(الشكل 5-15) صورة إلكترونية مجهرية مع الشكل التوضيحي تظهر ناتج التهجين بين الرنا المرسال وجين الأوفالبوبمين المرمرزين لبروتين **Ovalbumin** في الدجاج تبين تشكّل الجزيء المتغاير من الرنا والدنا مع خروج تسلسلات الإنترونات خارج سلسلة الدنا. وتبدو في الشكل 7 إنترونات (A-G) تؤدي إلى ظهور عرى غير هجينة.

لا تحتوي جميع الجينات في حقيقيات النوى على الإنترونات. مع ذلك، يفوق عدد الجينات الحاوية على الإنترونات تلك التي لا تحويها في الحيوانات والنباتات الراقية. ويؤدي وجود الإنترونات في الكثير من الجينات إلى زيادة كبيرة في طول الجين، إذ عادةً ما تشكّل الإكسونات قطعاً قصيرة متناثرة بين الإنترونات الطويلة. ويتراوح طول الإنترونات من 50 نوكلوتيداً إلى الآلاف من النوكلوتيدات، كما يختلف عددها من جين إلى آخرى. فعلى سبيل المثال، تحتوي جين البيتا غلوبين β -globin على إنترونين يتداخلان بين 3 إكسونات، بينما تتألف جين عامل التخثر الثامن من 26 إكسوناً و 25 إنترونأً (الشكل 5-16). أما أكبر الجينات المعروفة في الإنسان فهي جين **DMD** التي تؤدي الطفرات فيها إلى داء الحثل العضلي **Muscular Dystrophy**، ويبلغ طولها 2.5 مليون نوكلوتيد مع احتوائها على 78 إنترونأً.



(الشكل 5-16) عدد إكسونات (باللون الأحمر) وإنترونات (باللون البرتقالي) جينتي البيتا غلوبين البشري (A) وعامل التخثر الثامن البشري (B).

وعلى الرغم من أن الدور الحيوي للإنترونات غير معروف بدقة وقد يتغير من إنترون لآخر، فقد تراكمت أدلة كافية أشارت إلى دورٍ محتملٍ للكثير من الإنترونات في تنظيم التعبير الجيني للجينات التي تحتويها. إضافةً لذلك، تحتوي بعض الإنترونات على محضّضات بديلة نوعية لبعض النسخ، كما تحتوي إنترونات أخرى على تسلسلات تعزّز تراكم جزيئات الرنا المُنتسَخ. مع ذلك، تقترح معدلات حدوث الطفرات الأعلى في الإنترونات بالمقارنة مع الإكسونات أن الكثير من الإنترونات لا يملك بالفعل دوراً بيولوجياً مهماً، بعكس الإكسونات التي ترمّز البروتينات وغير المتحمّلة لحدوث الطفرات. وقد ظهرت مؤخراً فرضيات تفسّر وجود الإنترونات كنتيجة لدمج الجينات بعضها مع بعض خلال تطور الكائنات الحية لتشكل الجينات التي نعرفها اليوم.

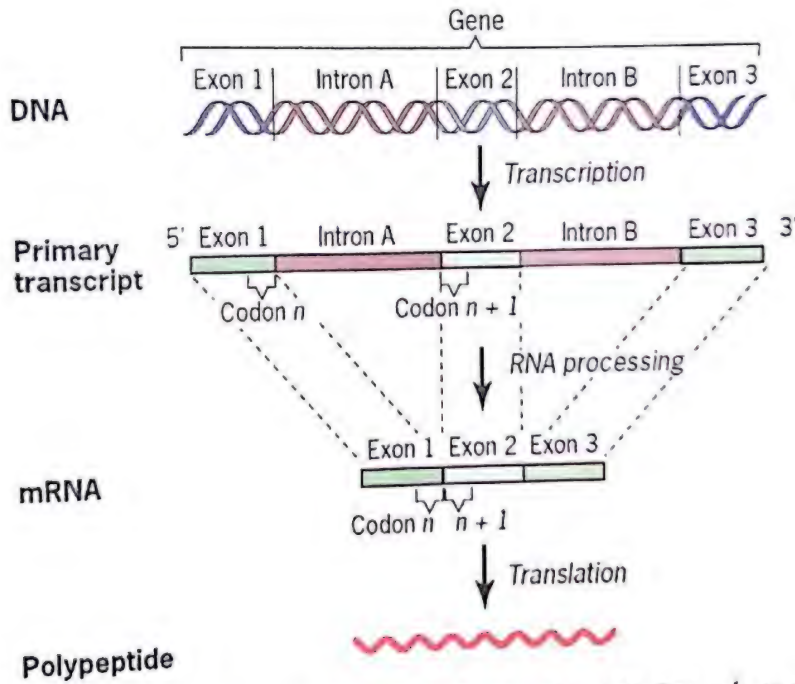
6.3.5. إزالة تسلسلات الإنترونات عبر تَصفير الرنا RNA Splicing

كما أشرنا سابقاً، تحتوي معظم جينات النواة في حقيقيات النوى إنترونات حيث تُزال هذه الإنترونات بعملية التصفير Splicing قبل خروج الرنا المرسل الناضج من النواة، أي لاحقاً للانتساخ وسابقاً للترجمة (الشكل 5-17). دلّت الأبحاث الحديثة أن تَصفير تسلسلات الإنترونات يمكن أن يؤثر في التعبير الجيني، وبرزت هذه الأهمية بعد توثيق أثر الطفرات في موقع التصفير على حدوث عدد من الأمراض، من أهمها اضطرابات الهيموغلوبين والتلاسيميا.

يجب أن تتم عملية التفسير بدقة متناهية لجزيئات الرنا المرسال التي ترمز البروتين؛ أي يجب أن يجري ضمّ الإكسونات بعضها مع بعض بدقة لا تحتمل الخطأ حتى بنوكليوتيد واحد لتضمن بذلك عدم تغير قراءة الشيفرات أثناء الترجمة ومنعاً لتشكل طفرات انزياح الإطار (Frame-Shift Mutations) (انظر الفصل التاسع). وبلا شك، يتطلب ذلك وجود إشارات تفسير عالية الدقة تتضمن تسلسلات نوكلويدية داخل الإنترونات وفي مواقع اتصال الإكسونات مع الإنترونات. مع ذلك، تكون التتاليات الوحيدة المصانة بشكل كلي في الإنترونات المختلفة عبارة عن نوكلويدتين فقط على طرفي الإنترون هي:

Exon – GT AG – Exon

ملاحظة: التتاليات الموضحة أعلاه هي موجودة في طاق الدنا غير المرصاف (المماثل لمنتسخ الرنا فيما عدا استبدال اليوراسيل U في الرنا عوضاً عن الثيمين T في الدنا).



(الشكل 5-17) تفسير الرنا، أي إزالة الإنترونات وإعادة ربط الإكسونات. ويلاحظ ترقيم النوكليوتيد الأخير من الإكسون الأول الذي يليه مباشرة النوكليوتيد الأول من الإكسون الثاني بعد التفسير، بحيث تحافظ عملية التفسير على جميع التتاليات النوكليوتيدية في الإكسونات وتزيل جميع تتاليات الإنترونات.

بيّن الباحثون أن هنالك ثلاثة أنماط مميزة لشطر الإنترونات من منتسخات الرنا البدئية (طلائع الرنا):

1. تُشَطَّر طلائع الرنا الناقل tRNA عبر تفاعلات شطر دقيقة تتم داخل جزيء الرنا الناقل تُحفَّز بفعاليات إنزيمية للإنكدونكلياز Endonuclease، الذي يشطر الإنترونات، والليغاز Ligase، الذي يعيد ارتباط الإكسونات بعضها ببعض.

2. تُزال إنترونات بعض طلائع الرنا الريباسي rRNA عبر تحفيز ذاتي Autocatalysis مُتواسط بجزيء الرنا نفسه، ولا يحتاج ذلك إلى أي فعالية إنزيمية بروتينية.

3. تُشَطَّر طلائع الرنا المرسال المتغايرة (hnRNA) بتفاعلات تتبع خطوتين اثنتين تقوم بهما بروتينات نووية ريبية تدعى جسيمات التضفير Spliceosomes.

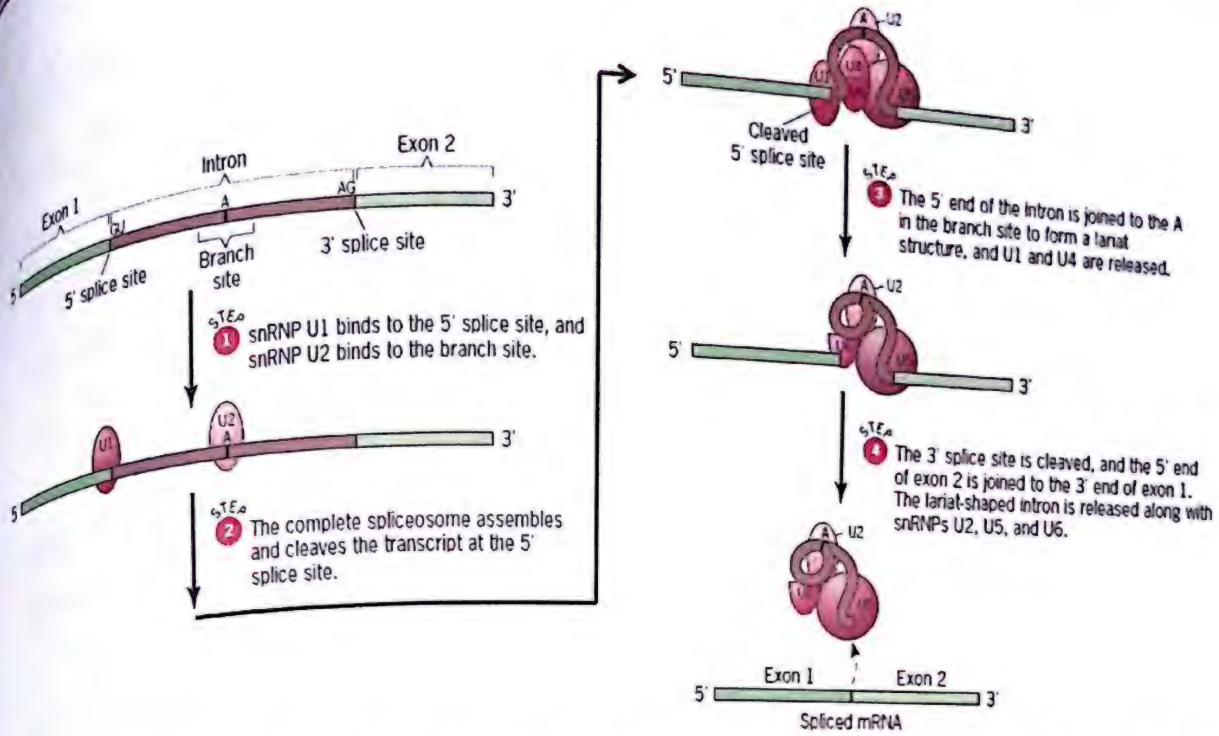
وسنركّز هنا فقط على النمط الثالث لأنه يُعنى بتضفير الرنا المرسال المشقّر للبروتينات.

يتم تضفير طليعة الرنا في النواة بتواسط جسيمات التضفير، وهي معقدات هجين من الرنا والبروتين تشبه إلى حد بعيد الريباسات، وتحتوي على جزيئات رنا صغيرة تدعى جزيئات الرنا النووي الصغيرة Small Nuclear RNAs أو (SnRNAs) إضافةً لنحو 40 بروتيناً. يُظهر الشكل 5-18 مرحلتي تضفير طليعة الرنا النووي، وذلك على الرغم من أن الكثير من تفاصيل العملية غير معروفة حتى الآن.

تكتنف خمسة أنواع من الرنا النووي الصغير، تدعى U1 وU2 وU4 وU5 وU6، عملية التضفير كأجزاء من معقد جسيم التضفير Spliceosome.

ملاحظة: يقع U3 في النواة، ويكون مسؤولاً عن تشكيل الريباسات، ولا يتدخل في تضفير الرنا المرسال.

يتراوح حجم جزيئات snRNAs بين 100 نوكلوتييد في U6 إلى 215 نوكلوتييد في U3. ولا توجد جزيئات الرنا هذه بشكل حر بل دوماً بشكل معقدات RNA-Protein تدعى البروتينات النووية الريبية الصغيرة Small Nuclear Ribonucleoproteins أو snRNPs.



(الشكل 5-18) مراحل تضفير الرنا المرسال الأولي. (1) يرتبط البروتين النووي الريبسي U1 إلى النهاية 5' للإنترون (أوموقع الشطر 5') والبروتين النووي الريبسي U2 إلى موقع داخل الإنترون يدعى بموقع التفَرع Branch Site. (2) يتشكل كامل جسيم التضفير Spliceosome ويشطر النهاية 5' للإنترون المشطور مع موقع التفَرع داخل الإنترون نفسه مشكّلةً بنية تسمى البنية الملتوية Lariat Structure. (4) تُشطر النهاية 3' للإنترون ويحرر الإنترون مع البروتينات النووية المرتبطة بها، ويعاد ربط الإكسونين بعضهما مع بعض بتوسط إنزيم الليغاز.

تضم المرحلة الأولى من التضفير شطر الإنترون من نهايته الـ 5'، أي بين نهاية الإكسون وبين النوكليوتيد الأول في الإنترون وهو G، وتشكيل رابطة فسفورية ثنائية الإستر بين الكربون 5' للغوانين عند موقع الشطر والكربون 2' للأدنين المصان قرب النهاية 3' للإنترون، وتتطلب هذه المرحلة الطاقة التي توفرها جزيئات الـ ATP. في المرحلة الثانية يُشطر موقع التضفير 3' للإنترون وبعدها يتم ربط الإكسونين سوياً عبر رابطة فسفورية ثنائية الإستر بين هيدروكسيل النوكليوتيد الأخير في الإكسون السابق ومجموعة فسفات النوكليوتيد الأول في الإكسون التالي. يكون بعدها الرنا المرسال الناضج جاهزاً لمغادرة النواة إلى الهيولى إذ تتم ترجمته على الريباسات.

خاتمة

تعرّفنا في هذا الفصل أهم آليات المرحلة الأولى من التعبير الجيني لدى كل من بدائيات وحقيقيات النوى مبرزين مدى التشابه والاختلاف في تلك الآليات بينهما، الأمر الذي لا بدّ وأنه يفسّر سرعة تكيف بدائيات النوى مع الشروط البيئية المحيطة نسبةً لحقيقيات النوى التي تبدي استجابات أبطأ وأكثر تعقيداً لتلك التغيرات. وسنشرع في الفصل التالي (الفصل السادس) بدراسة آليات المرحلة الثانية، وهي ترجمة المعلومات الوراثية المنتسخة إلى البروتينات الوظيفية في تلك الكائنات.

الفصل السادس

الترجمة واصطناع البروتينات

Translation and Protein Synthesis

المحتويات Contents

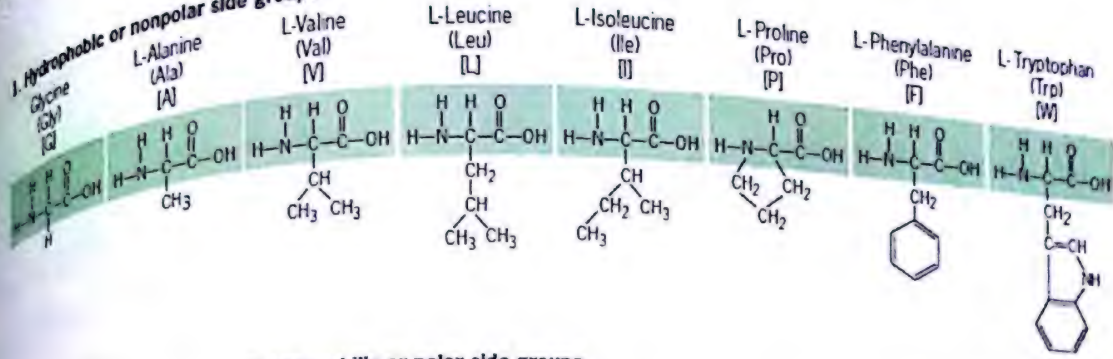
- | | |
|---|-----------------------------------|
| 1.6. العلاقة الخطية بين الرنا المرسال وعديد الببتيد | 2.3.6. الرنا الناقل |
| 2.6. الرامز أو الشيفرة الوراثية | 4.6. مراحل ترجمة الرامز الوراثي |
| 1.2.6. خصائص الرامز الوراثي | 1.4.6. طور البدء |
| 2.2.6. تفسير الرامز الوراثي | 2.4.6. طور الإطالة |
| 3.6. متطلبات ترجمة الرامز الوراثي | 3.4.6. طور الإنهاء |
| 1.3.6. الريباسات | 5.6. مواقع الترجمة ومصير البروتين |

مراجعة بنية البروتينات

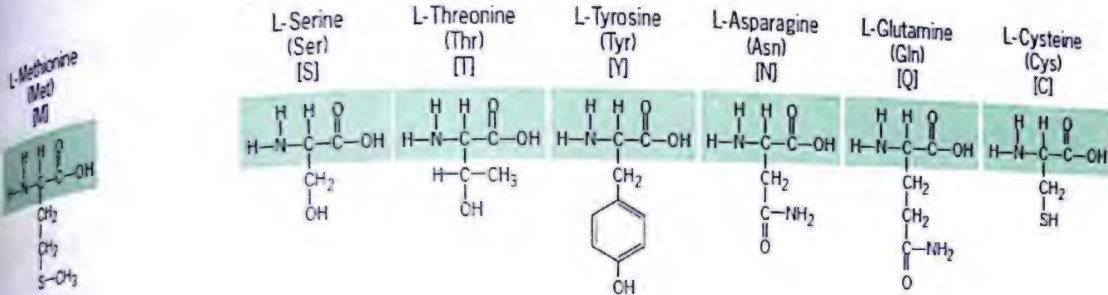
تشكل البروتينات نحو 15 بالمئة من الوزن الرطب للخلايا، وتأتي بذلك في المرتبة الثانية فقط بعد الماء، وتؤدي أدواراً حيوية هامة جداً بالنسبة للخلية. تتألف البروتينات من عديدات الببتيد، يرمز كلٌ منها إحدى الجينات. ويتألف عديد الببتيد من تتال طويل من الأحماض الأمينية المرتبطة معاً بروابط تساهمية تدعى الروابط الببتيدية Peptide Bonds. يوجد 20 حمضاً أمينياً في معظم البروتينات. ويمكن لبعض الأحماض الأمينية أن تخضع للتعديل بعد اصطناع سلسلة عديد الببتيد لينجم عن ذلك حمض أميني معدل جديد في البروتين الناضج. يوضح الشكل 1-6 بنية الأحماض الأمينية العشرين، ويظهر في الشكل أن جميع هذه الأحماض، عدا البرولين، تحتوي على مجموعة أمينية حرة ومجموعة كربوكسيلية حرة. تنقسم الأحماض الأمينية إلى أربع مجموعات:

1. الأحماض الأمينية الكارهة للماء Hydrophobic (غير القطبية): وهي الغليسين، الألانين، الفالين، اللوسين، الإيزولوسين، البرولين، الفنيل ألانين، التريوفان والميثيونين.
 2. الأحماض الأمينية المحبة للماء Hydrophilic (القطبية): وهي السيرين، الثريونين، التيروسين، الأسباراجين، الغلوتامين، والسستين.
 3. الأحماض الأمينية الحمضية Acidic: وهي الحمض الأسبارتي والحمض الجلوتامي.
 4. الأحماض الأمينية القلوية Basic: وهي الليزين، الأرجنين، والهستيدين.
- يتألف الببتيد من اثنين أو أكثر من الأحماض الأمينية. وعديدات الببتيد هي تتاليات طويلة من الأحماض الأمينية، تتراوح بين 51 حمضاً أمينياً في الإنسولين إلى أكثر من 1000 حمض أميني في بروتين الفبروين Fibroin الموجود في الحرير. من جهة أخرى، إن العدد الكلي لاحتمالات عديد ببتيد بطول 100 حمض أميني هو 20 للأس 100، حتى لو كان الببتيد مؤلفاً من 7 أحماض أمينية فقط فإن الاحتمالات الكلية تبلغ 20 للأس 7 أي 1.28 مليار احتمالاً. تبرز هنا أهمية تحديد التتالي المفيد والوظيفي للأحماض الأمينية، الذي يتركز على تتالي النوكليوتيدات في مادتنا الوراثية.

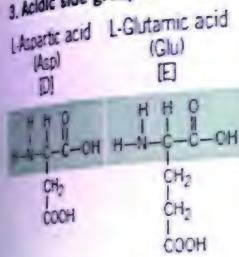
1. Hydrophobic or nonpolar side groups



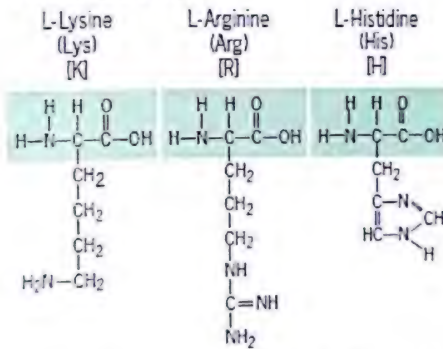
2. Hydrophilic or polar side groups



3. Acidic side groups

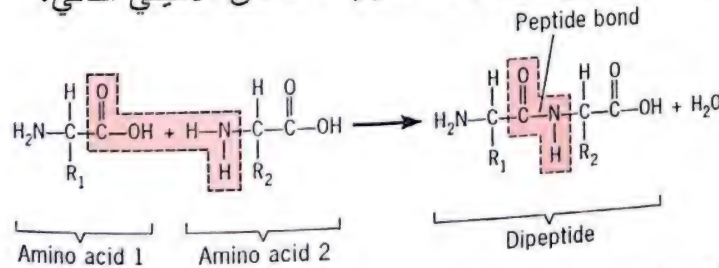


4. Basic side groups



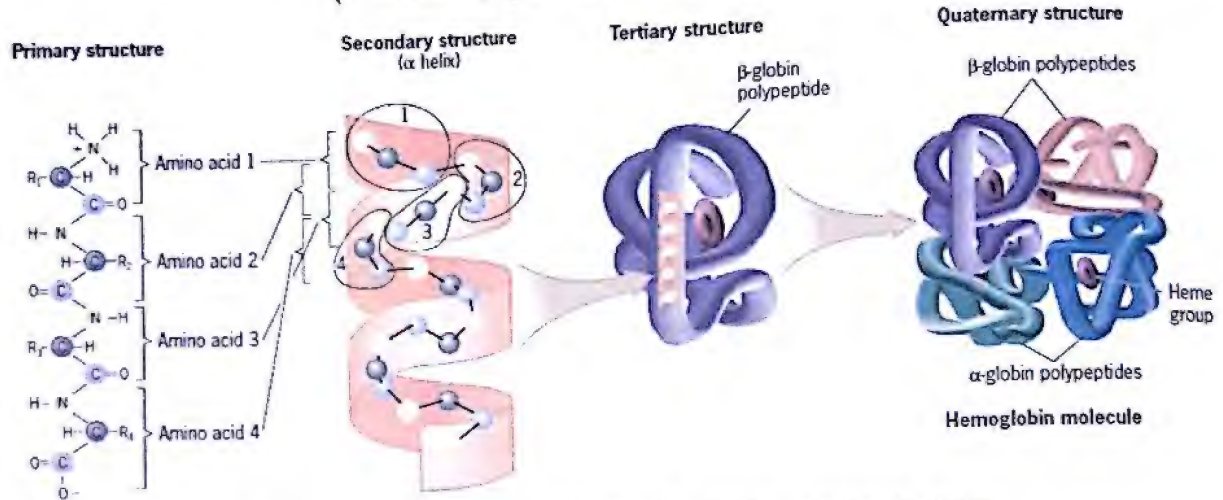
(الشكل 6-1) أنواع وبنى الأحماض الأمينية العشرين

ترتبط الأحماض الأمينية في عديد الببتيد بعضها مع بعض بروابط ببتيدية Peptide Bonds بين المجموعة الكربوكسيلية للحمض الأميني الأول مع المجموعة الأمينية للحمض الأميني التالي.



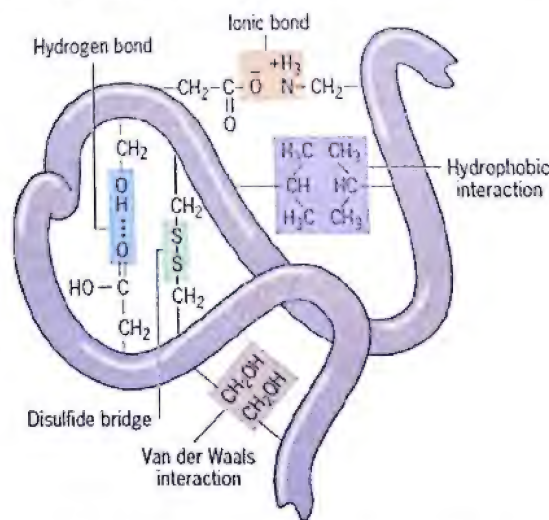
يمكن تمييز أربعة مستويات من بنى البروتينات موضحة بالشكل (6-2)؛ البنية الأولية Primary، وهي نوع وتسلسل الأحماض الأمينية ترمز من قبل مُنتسَخات الجينات، البنية الثانوية Secondary، وهي درجة

التفاف الأحماض الأمينية نسبة لبعضها البعض في نفس المستوي بشكلين هما صفيحة بيتا المنثية Beta Pleated Sheet وحلزون ألف Alpha Helix، والبنية الثالثة Tertiary وهي التفاف سلسلة عديدة الببتيد في الفراغ، وأخيراً البنية الرابعة Quaternary وتوجد فقط في البروتينات التي تحوي على أكثر من سلسلة عديدة ببتيد. يمثل الهيموغلوبين مثلاً ممتازاً لشرح البنى الأربع (الشكل 6-2).



(الشكل 6-2) البنى الأولية والثانوية والثالثة والرابعة لبروتين الهيموغلوبين

تتثبت البنية الثانوية للبروتين بالروابط الهيدروجينية بين الأحماض الأمينية المتقابلة في سلاسل بيتا أو حلزون ألفا، بينما تتثبت البنيتان الثالثة والرابعة (إن وجدت البنية الرابعة) عن طريق الروابط الهيدروجينية والجسور الملحية بين الشحنات المتقابلة والروابط الكارهة للماء وقوى فاندرالس، إضافة إلى الروابط ثنائية الكبريت بين ثمالات السيستئين المتقابلة، وهذه الأخيرة هي الأقوى بين الروابط سابقة الذكر (الشكل 6-3).



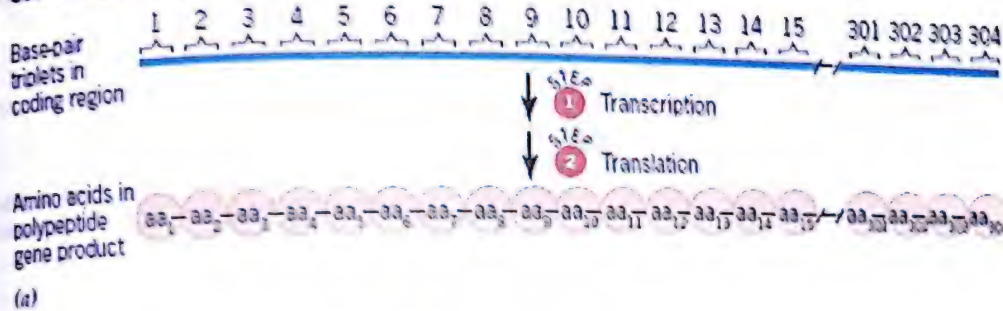
(الشكل 6-3) أنواع الروابط المثبتة للبنية الثالثة للبروتين

تحدث عملية طي البروتين Protein Folding، أي التفاف سلسلة عديد الببتيد على نفسها في المستوي نفسه (ثنائي البعد) أو فراغياً (ثلاثي البعد)، بشكل تلقائي غالباً تحدده البنية الأولية للبروتين. فإذا ما تعرض البروتين إلى التمسّخ Denaturation وتفككت البنية الثالثة له، يمكن للبروتين أن يعاود الالتفاف والانطواء بشكل تلقائي أو بمساعدة بعض البروتينات التي تدعى بالشابيرونات Chaperones ويأخذ نفس الشكل الفراغي والبنية الثالثة الأصلية.

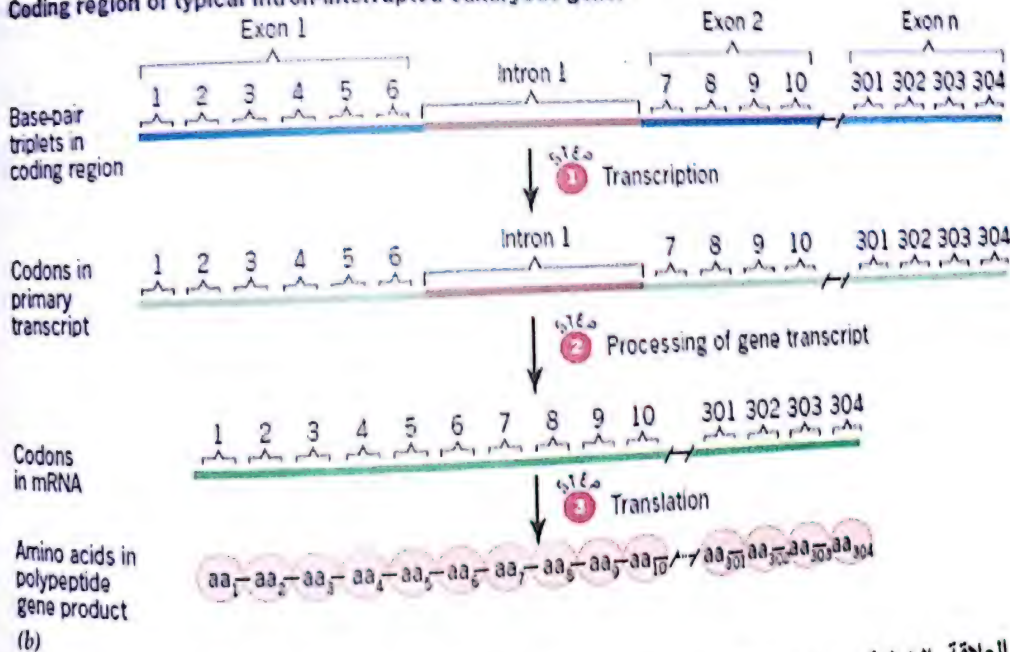
1.6. العلاقة الخطية Linearity بين الرنا المرسال وعديد الببتيد

تكون العلاقة خطية Linear بين الجينات ومنتجاتها من عديدات الببتيد في كل من بدائيات وحقيقيات النوى، وبشكل أكثر تحديداً، بين الرموز الوراثي المكوّن من ثلاثة نوكلئوتيدات وبين كل من الأحماض الأمينية.

Coding region of typical uninterrupted prokaryotic gene.



Coding region of typical intron-interrupted eukaryotic gene.



(الشكل 6-4) العلاقة الخطية بين الجينات وعديدات الببتيد الناتجة عن التعبير عنها في كل من بدائيات وحقيقيات النوى (a) وحقيقيات النوى (b).

أثبتت العلاقة الخطية بين تتاليات الجين وتتاليات الأحماض الأمينية التي ترمزها عدّة تجارب مفتاحية أساسية عبر تطفير Mutating الدنا وملاحظة التغير الحاصل في النمط الظاهري للبروتينات المطفرة، حيث كان الارتباط مباشراً بين التغير النوكليوتيدي والتغير في الحمض الأميني الناتج عن هذا التطفير. وتظهر هذه العلاقة الخطية بوضوح في بدائيات النوى إذ لا إنترونات تفصل بين التتاليات المرمزة للأحماض الأمينية. مع ذلك، لا يلغي وجود الإنترونات في جينات حقيقيات النوى خطية هذه العلاقة، بل يغير فقط من التقابل الفيزيائي للتتاليات المرمزة في شريط الدنا مع الأحماض الأمينية، وتعود هذه العلاقة للظهور بوضوح مرة أخرى بين الرنا المرسال الناضج (بعد إزالة الإنترونات) وبين تتاليات الأحماض الأمينية (الشكل 4-6).

ومن أبسط وأولى الأمراض التي تم فيها ربط حدوث طفرة وحيدة مع تغير الحمض الأميني الناتج عن تبدل الرامز الوراثي الخاص به هو فقر الدم المنجلي Sickle Cell Anemia، إذ تبدو العلاقة خطية وواضحة جداً بين الطفرة النقطية Point Mutation في جين بيتا غلوبين المؤدية إلى تغير نوكليوتيد واحد فقط من T إلى A في الرامز السادس، مما ينتج عنه تغير الحمض الأميني المشفر بـ CTC (الحمض الغلوتامي Glu) إلى الحمض الأميني المشفر بـ CAC (الفالين Val)، الأمر الذي يؤدي إلى تشكّل الخضاب المنجلي Sickel Hemoglobin، وتغير شكل الكرية الحمراء إلى الشكل المنجلي بدل القرص مقعر الوجهين بالحالة الطبيعية (الشكل 5-6).

NORMAL β -GLOBIN				
DNA.....	TGA	GGA	CTC	CTC.....
mRNA.....	ACU	CCU	GAG	GAG.....
Amino acid.....	Thr	Pro	Glu	Glu.....
	4	5	6	7
MUTANT β -GLOBIN				
DNA.....	TGA	GGA	CAC	CTC.....
mRNA.....	ACU	CCU	GUG	GAG.....
Amino acid.....	Thr	Pro	Val	Glu.....
	4	5	6	7



(الشكل 5-6) أثر الطفرة النقطية في الرامز السادس لجين بيتا غلوبين في استبدال الفالين بدل الحمض الغلوتامي وتغير شكل الكريات الحمراء (إلى اليمين) من الشكل مقعر الوجهين إلى الشكل المنجلي (السهم).

2.6. الرامز الوراثي أو الشيفرة الوراثية The Genetic Code

1.2.6. خصائص الرامز الوراثي Properties of Genetic Code

حدّدت المعالم الرئيسية للرامز الوراثي خلال ستينيات القرن الماضي، وشملت ما يلي:

1. يتألف كل رامز (رامز أو رامز) Codon من ثلاثيات نوكلويدية. تحدّد كل ثلاثة نوكلويدات من الرنا المرسال (الناضج) حمضاً أمينياً واحداً في عديد الببتيد الناتج.
2. الرامز الوراثي غير متداخل Nonoverlapping عموماً. ينتمي كل نوكلويد إلى واحد فقط من الروامز، باستثناء بعض الحالات الخاصة حين تتداخل بعض الجينات وتتم قراءة التسلسل النوكلويدية بإطارٍ ترجمة مختلفين.
3. الرامز الوراثي لا يحتوي فواصل. لا توجد فواصل أو أي من علامات الترقيم الأخرى بين المناطق المرمّزة في الرنا المرسال. وخلال الترجمة، تُقرأ الروامز بشكل متتالي وغير متقطع. ملاحظة: يدعى التتالي النوكلويدية المستمر للرنا المرسال بدءاً من الرامز AUG إلى أحد رومز الإيقاف بإطار القراءة المفتوح للترجمة Open reading Frame أو ORF.
4. الرامز الوراثي متعدد Degenerate. فجميع الأحماض الأمينية، إلا اثنين منها تحدّد بأكثر من ثلاثية نوكلويدية، أي أكثر من رامز.
5. الرامز الوراثي غير ملتبس Unambiguous. يحدّد كل رامز حمضاً أمينياً واحداً فقط.
6. الرامز الوراثي مرتّب ومنظّم. تكون الروامز المرمّزة للحمض الأميني الواحد، وكذلك المرمّزة لأحماض أمينية متشابهة بالخصائص الكيميائية، متشابهة وتختلف عادةً بنوكلويد واحد.
7. تتضمن الروامز الوراثية رامز بدء Start Codon واحد هو AUG وثلاثة رومز توقّف Stop Codons هي UAA و UGA و UAG.
8. الرامز الوراثي عامّ تقريباً Nearly Universal. على الرغم من وجود بعض الاستثناءات، تمتلك الروامز نفس المعنى، وتُقرأ بنفس الطريقة تقريباً في جميع الكائنات الحية، من الجراثيم إلى الإنسان. ملاحظة: تظهر أهمية هذه الصفة لدى إنتاج بروتينات بشرية في الجراثيم عبر إدخال جين بشري فيها تعبّر عن رنا مرسال بشري لتتمّ قراءته وترجمته بالشكل نفسه في الجراثيم كما في الإنسان.

2.2.6. تفسير الرامز الوراثي Deciphering the Genetic Code

يعود الفضل في تفسير وقراءة التتاليات النوكلويدية في الرنا المرسال إلى مجموعة من الدراسات قام بأهمها العلماء Marshall Nirenberg و Ghobind Khorana و Robert Holley الذين نالوا لذلك جائزة نوبل في الفيزيولوجيا والطب عام 1968.

كانت البداية هي في تحديد أن كل رامز مؤلف من ثلاثة نوكليويتيدات، وقام بذلك العالم Francis Crick عام 1961 عبر عدة تجارب استخدم فيها التطفير، وانطلق من أن الروامز الوراثية يجب أن تتألف على الأقل من ثلاثة نوكليويتيدات. كما نعلم، يبلغ عدد أنواع النوكليويتيدات أربعة فقط، بينما يبلغ عدد أنواع الأحماض الأمينية 20 حمضاً أمينياً. لذلك، يجب أن يكون هنالك على الأقل 20 احتمالاً للروامز. فإذا ما افترضنا أن كل رامز يتألف من نوكليويتدين فقط، يكون عدد الاحتمالات الكلي لجميع الشيفرات المؤلفة من نوكليويتدين هو 4 للأس 2، أي 16 فقط، وهذا العدد غير كافٍ. أما إذا كان الرامز مؤلفاً من ثلاثة نوكليويتيدات، يكون عدد الاحتمالات الكلي هو 4 للأس 3، أي 64، وهو عدد يزيد على عدد الأحماض الأمينية بشكل واضح.

توالت الأبحاث التي قام بها العلماء السابق ذكرهم التي بيّنت أن الرامز هو فعلاً ثلاثي النوكليويتيدات. ولاحقاً، قام العلماء بتصنيع جزيئات رنا مرسال كيميائياً مؤلفة من تتاليات معروفة مسبقاً. وتألف أول جزيء رنا مرسال صناعي فقط من نوع واحد من النوكليويتيدات هو اليوراسيل. ونتج عن ترجمة هذا الرنا الصناعي في الجراثيم بروتين مؤلف فقط من الحمض الأميني الفينيل ألانين، واستنتج بذلك أن الرامز المرمز لهذا الحمض الأميني هو UUU. وهكذا، تتابعت التجارب المماثلة التي أظهرت أن معظم الأحماض الأمينية يرمزها أكثر من رامز، وأن هنالك ثلاثة احتمالات للروامز لا ينتج عن ترجمتها أي بروتين سُميت لاحقاً بروامز التوقف. نتج عن هذه الدراسات البارعة جدول الرامز الوراثي (الشكل 6-6) الذي يبين نوع الأحماض الأمينية الناتج عن قراءة وترجمة كل من الروامز المبينة ضمنه.

3.6. متطلبات ترجمة الرامز الوراثي

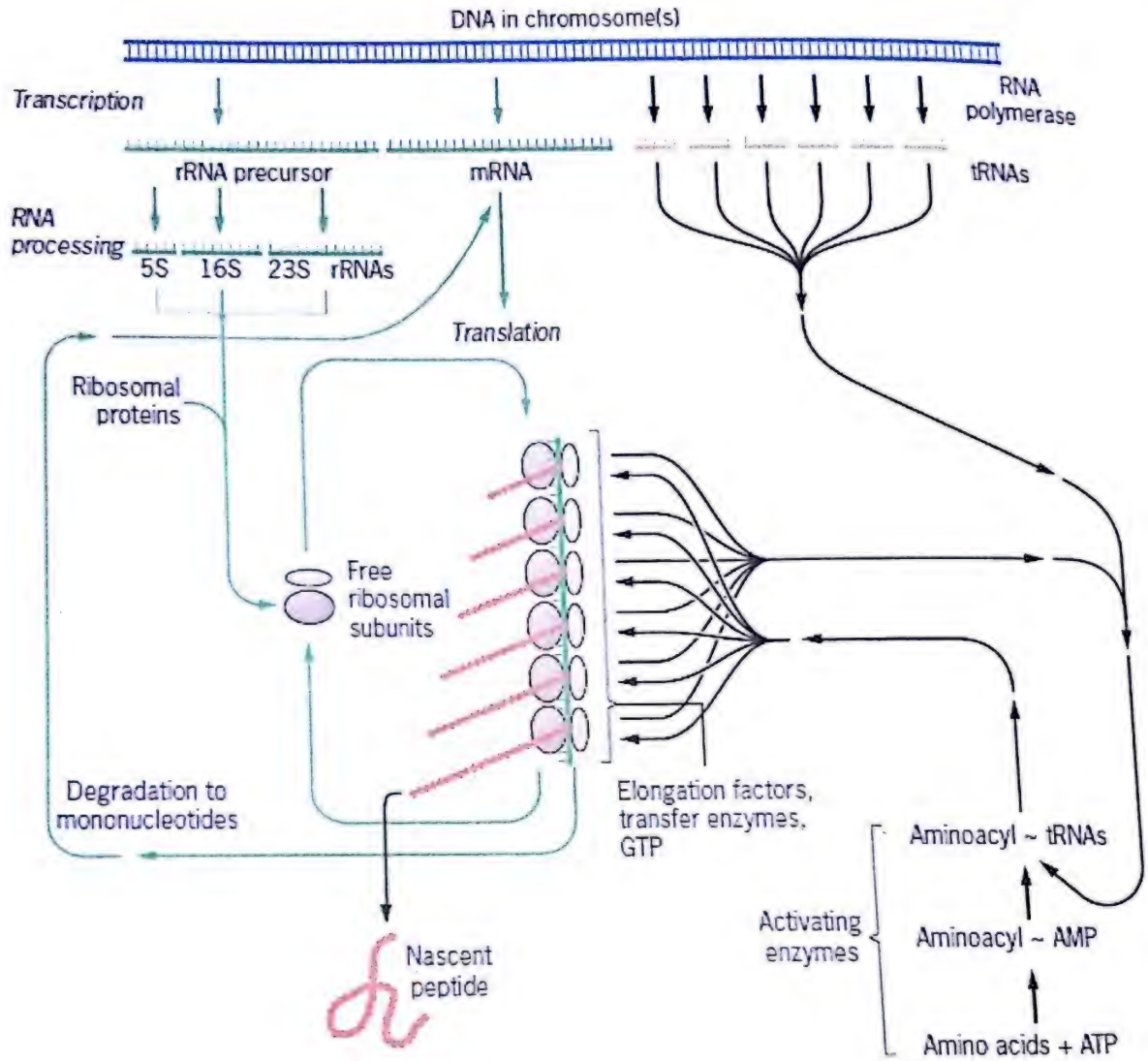
تتطلب العملية المعقّدة الهادفة إلى ترجمة المعلومات الجينية المحفوظة ضمن تسلسلات الدنا وبعده الرنا المرسال عدداً كبيراً من الجزيئات الكبيرة Macromolecules. وتشمل هذه الجزيئات:

1. أكثر من 50 عديد ببتيد وثلاثة إلى خمسة جزيئات رنا موجودة في كل ريباسة Ribosome.
 2. على الأقل 20 إنزيماً يقوم كل منها بتنشيط أحد الأحماض الأمينية.
 3. 40 إلى 60 جزيء رنا ناقل tRNA مختلف.
 4. الكثير من البروتينات المنحلّة التي تساعد في المراحل الثلاث للترجمة؛ البدء والإطالة والإنهاء.
- وعلى اعتبار أن الكثير من هذه الجزيئات الكبيرة، ولاسيما مكونات الريباسات، توجد بكميات كبيرة ضمن كل خلية، فإن منظومة الترجمة تحتل جزءاً كبيراً من استقلال الخلية.

		Second letter				
		U	C	A	G	
First (5') letter	U	UUU } Phe (F) UUC } UUA } Leu (L) UUG }	UCU } UCC } Ser (S) UCA } UCG }	UAU } Tyr (Y) UAC } UAA Stop (terminator) UAG Stop (terminator)	UGU } Cys (C) UGC } UGA Stop (terminator) UGG Trp (W)	U C A G
	C	CUU } CUC } Leu (L) CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro (P) CCA } CCG }	CAU } His (H) CAC } CAA } Gln (Q) CAG }	CGU } CGC } Arg (R) CGA } CGG }	U C A G
	A	AUU } AUC } Ile (I) AUA } AUG Met (M) (initiator)	ACU } ACC } Thr (T) ACA } ACG }	AAU } Asn (N) AAC } AAA } Lys (K) AAG }	AGU } Ser (S) AGC } AGA } Arg (R) AGG }	U C A G
	G	GUU } GUC } Val (V) GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala (A) GCA } GCG }	GAU } Asp (D) GAC } GAA } Glu (E) GAG }	GGU } GGC } Gly (G) GGA } GGG }	U C A G

(الشكل 6-6) جدول الرامز الوراثي. ويبيّن أنواع الأحماض الأمينية الناتجة عن كل من الاحتمالات الـ 64 الناتجة عن ترتيب مختلف للنوكليوتيدات الأول والثاني والثالث في الروامز الثلاثية. يمكن تمييز رامز البدء AUG وروامز التوقف UAA، UAG، UGA.

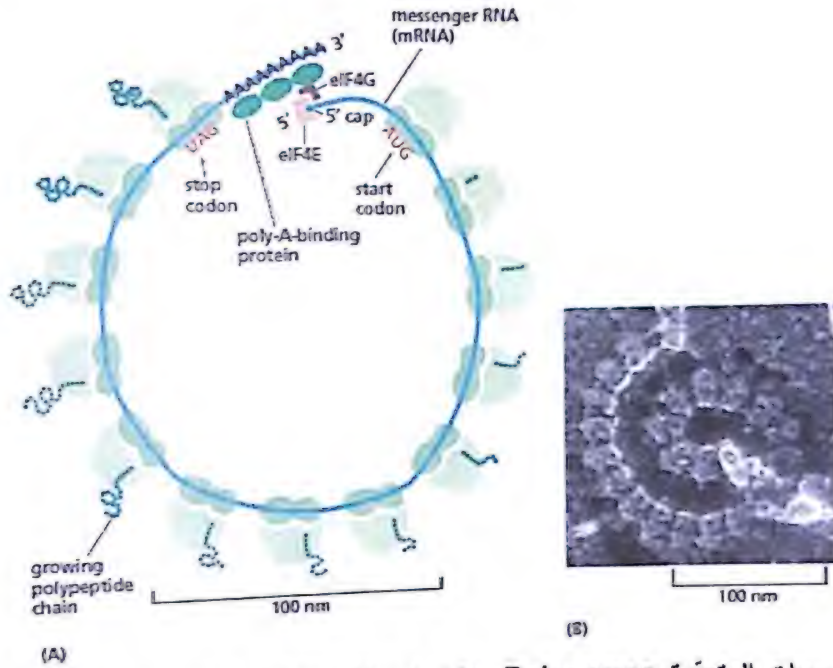
وقبل الخوض في تفاصيل عملية الترجمة، سنقوم باستعراض بانورامي سريع للترجمة، موضحين تعقيدها ومعظم الجزيئات الكبيرة التي تكتنف هذه العملية (الشكل 6-7). تحدث الترجمة على الريباسات، وهي بنى كبيرة معقدة في هيولى الخلية. تتطلب الترجمة ثلاثة أنواع من الرنا، جميعها يُنسخ من الدنا. إضافةً للرنا المرسال، توجد ثلاثة إلى خمسة جزيئات رنا ريباسي rRNA كجزء من بنية الريباسة، وتعمل 40 إلى 60 من جزيئات الرنا الصغيرة الناقلة tRNA كملئمات Adapters عبر تواسط إدراج الأحماض الأمينية المناسبة في عديدات الببتيد استجابةً لتتاليات الرنا المرسال النوعية.



(الشكل 6-7) استعراض أنورامي لعملية الترجمة في بدائيات النوى.

ترتبط الأحماض الأمينية إلى جزيئات الرنا الناقل المناسبة بتوسط مجموعة من الإنزيمات المسماة Aminoacyl-tRNA Synthetases، ويُترجم التتالي النوكليوتيدي للرنا المرسل إلى تتالي الأحماض الأمينية تبعاً لتعليمات الرامز الوراثية. تحتوي بعض عديدات الببتيد تتاليات قصيرة من الأحماض الأمينية عند النهايات الأمينية أو الكربوكسيلية التي تعمل كإشارات لنقل عديدات الببتيد إلى حُجرات خلوية نوعية مثل الشبكة الإندوبلازمية والمقدرات والصانعات أو النواة. من جهة أخرى، تحتوي البروتينات المفردة على تتالي إشارة عند النهاية الأمينية الذي يوجّه عديد الببتيد الناشئ إلى أغشية الشبكة الإندوبلازمية. كما توجد تتاليات

مشابهة على النهايات الأمينية للبروتينات التي تستهدف المتقدرات والصانعات الخضراء، وتحتوي البروتينات النووية على تتاليات عند النهايات الكربوكسيلية. وفي عدة حالات، تتم إزالة الببتيدات المستهدفة (أو تتاليات الإشارة) إنزيمياً بتوسط ببتيديازات Peptidases نوعية بعد نقل البروتين إلى الحجرة الخلوية المناسبة. يمكن القول أن الريباسات هي مختبرات مع آلات ومعدات لصنع البروتينات. والريباسات غير نوعية، من حيث إنها تصنع أيّاً من عديدات الببتيد المرمزة بجزء رنا مرسل محدّد، حتى لو كان مصدر هذا الرنا المرسل من نوع آخر من الكائنات الحية (كما نرى عند اصطناع البروتينات البشرية في الجراثيم). في كثير من الأحيان، تتم ترجمة جزء الرنا المرسل نفسه بشكل متزامن من قبل عدة ريباسات، مما ينتج عنه تشكّل بنية عديدات الريباسات Polyribosomes أو الجسيمات المتعددة Polysomes (الشكل 6-8).



(الشكل 6-8) بنية الجسيمات المتعددة Polysomes. تظهر في (A) عدة ريباسات مرتبطة إلى جزء الرنا المرسل، إذ تبدأ ريباسة بالارتباط على النهاية 5' للرنا المرسل ثم تسير على طول الرنا المرسل باتجاه النهاية 3'، إلى أن تنهي ترجمة عديد الببتيد. وحالما تقطع الريباسة مسافة قصيرة على الرنا المرسل مغادرة بذلك موقع بدء الترجمة، ترتبط في موقع البدء ريباسة أخرى تشرع هي أيضاً بترجمة الرنا المرسل وتلتحق بزميلتها بالاتجاه 3'، وهكذا. تظهر في (B) صورة مجهرية لأحد الجسيمات المتعددة.

وبعد هذا العرض السريع سنتفحص الآن بعض المكونات الأهم لمنظومة الترجمة بشيء من التفصيل.

1.3.6. الريباسات Ribosomes

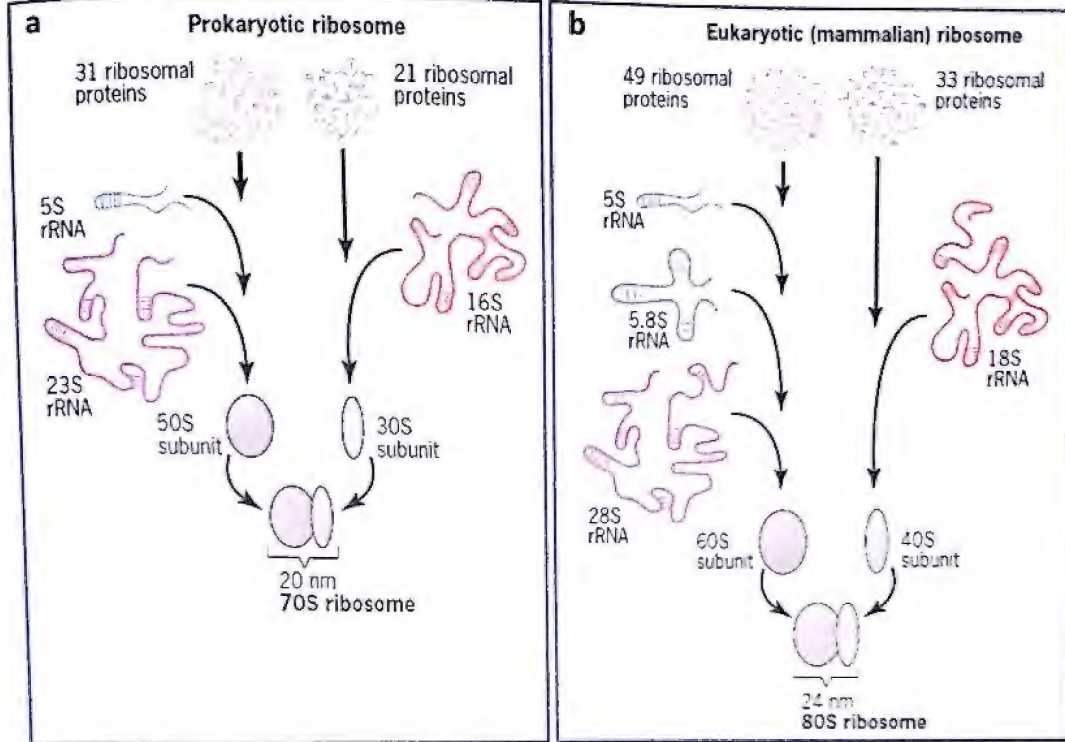
تخصّص المنظومات الحيّة جزءاً كبيراً من طاقتها لاصطناع بروتيناتها، أكبر قدرًا من أي من الأوجه الأخرى للاستقلاب. وتقريباً، يتكوّن ثلث الكتلة الجافة لمعظم الخلايا من جزيئات تساهم بشكل مباشر في اصطناع البروتينات. في جراثيم *E. coli*، تشكّل 200,000 ريباسة نحو 25% من الوزن الجاف للخلية. ويعكس هذا الالتزام من قبل الخلية باصطناع البروتينات أهمية هذه الجزيئات لحياة الكائنات الحية. في بدائيات النوى، تنتشر الريباسات في أرجاء الخلية، بينما تتوضع الريباسات عند حقيقيات النوى في الهيولى، وبشكل مكثف على الوجه الهيولي لأغشية الشبكة الإندوبلازمية.

تتكوّن الريباسات من نحو 50% بروتين و 50% جزيئات رنا، وتتألف من وُحَيّتين، كبيرة وصغيرة، ينفكّ بعضهما عن بعض عند انتهاء ترجمة الرنا المرسال وتعود للارتباط خلال بدء الترجمة.

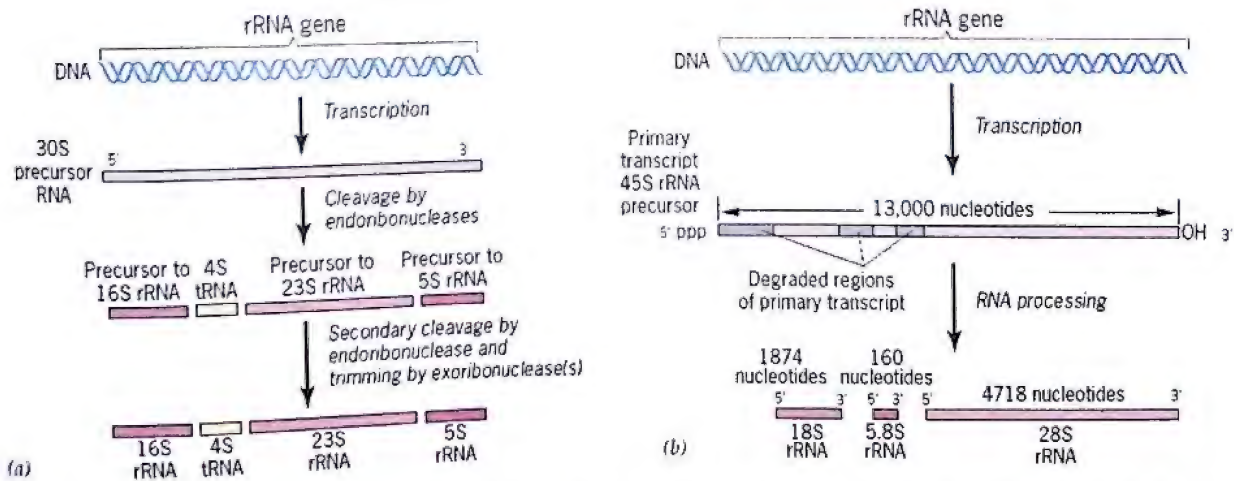
تتألف كل وُحَيّة من جزيء رنا كبير مطوي تتجمّع عليه البروتينات الريباسية Ribosomal Proteins. يتم عادةً التعبير عن أحجام الريباسات نسبةً لسرعة تسدّمها Sedimentation خلال عملية التثقيب Centrifugation باستخدام وحدات سفيدبرغ Svedberg أو S Units. تملك ريباسة جراثيم *E. coli*، كغيرها لدى بدائيات النوى، وزناً جزيئياً نحو 2.5 مليون دالتون، بوحدة تسدّم 70S وبأبعاد 20X25 نانومتر. تكون الريباسة لدى حقيقيات النوى أكبر، نحو 80S، على الرغم من أن حجمها يختلف بين نوع وآخر. أما ريباسات المتقدّرات والصناعات الخضراء في حقيقيات النوى فتكون أصغر حجماً، نحو 60S. وعلى الرغم من الاختلافات في الحجم، فإنّ البنية ثلاثية الأبعاد للريباسات هي نفسها في جميع الكائنات الحية. تحتوي الوُحَيّة الصغيرة (30S) في جراثيم *E. coli* على جزيء رنا ريباسي 16S مع 21 عديد ببتيد مختلف، وتحتوي الوُحَيّة الكبيرة (50S) على جزيئين رنا ريباسي (5S) و (23S) إضافةً إلى 31 عديد ببتيد. في ريباسات الثدييات، تحتوي الوُحَيّة الصغيرة على جزيء رنا ريباسي (18S) إضافةً إلى 33 عديد ببتيد والوُحَيّة الكبيرة على 3 جزيئات رنا ريباسي هي (5S) و (5.8S) و (28S) إضافةً إلى 28 عديد ببتيد (الشكل 6-9).

تُنتسخ جزيئات الرنا الريباسي rRNAs، كمثيلاتها في الرنا المرسال، من الدنا المرصاف. يحدث اصطناع rRNA في حقيقيات النوى داخل النوية Nucleolus بتوسط إنزيم بوليميراز الرنا Pol I، وبحيث تكون النوية جزءاً كثيفاً جداً من النواة تتخصّص في اصطناع جزيئات الرنا الريباسي وتجميعه مع البروتينات الريباسية. تكون جينات الرنا الريباسي في الدنا على شكل مصفوفات متعاقبة ومتجاورة تفصلها مناطق غير حاوية على جينات. وتُنتسخ جينات الريباسات على شكل طلائع رنا ريباسي rRNA Precursors تخضع لاحقاً لشرط لاحق للانتساخ Post-transcriptional Cleavage إلى جزيئات rRNA ناضجة أصغر حجماً. في جراثيم *E. coli*، تكون طليعة rRNA بحجم 30S ينتج عن شطرها الإنزيمي 5S و 16S و 23S إضافةً إلى

جزء رنا ناقل 4S tRNA. أما في الثدييات، فتنتج الجزيئات 5.8S و 18S و 28S عن شطر طليعة حجمها 45S، بينما ينتج 5S عن شطر طليعة rRNA لجين مختلف آخر (الشكل 6-10).



(الشكل 6-9) بنية الريباسات في بدائيات النوى (a) وحقيقيات النوى (b).



(الشكل 6-10) انتساخ وشطر جزيئات الرنا الريباسي اللاحق للانتساخ في كل من بدائيات النوى (a) وحقيقيات النوى (b).

توجد جينات الرنا الريباسي بعدة نسخ في مجائن Genomes جميع الكائنات الحية المدروسة إلى الآن. ولا يعدّ هذا التكرار مدهشاً بالنظر إلى العدد الكبير من الريباسات الموجود داخل الخلايا الحية. ففي *E. coli*،

تنتشر 7 جينات rRNA في 3 مواقع مختلفة لصبغي الخلية الوحيد، بينما يتراوح عدد نسخ جينات الرنا الريباسي في حقيقيات النوى بين مئات وآلاف النسخ متوزعة بين عدة صبغيات. وفي الإنسان، توجد مواقع جينات الرنا الريباسي (5.8S, 18S, 28S) في الصبغيات 13 و14 و15 و21 و22، بينما توجد مواقع جينات 5S في عدة صبغيات أخرى.

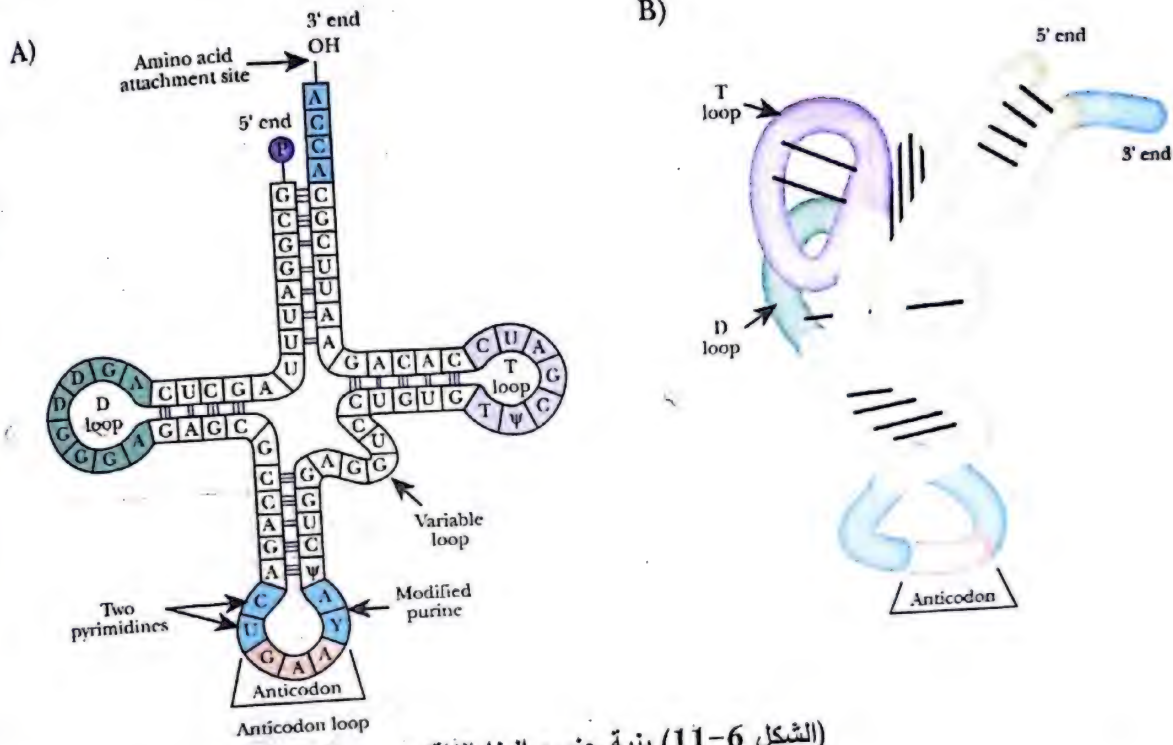
2.3.6. الرنا الناقل (tRNAs) Transfer RNAs

لا يمكن لاعتبارات كيميائية حصول تأثير مباشر بين الأحماض الأمينية وبين رومات الرنا المرسال. في عام 1958، اقترح العالم Francis Crick وجود نوع من المُلثِّمات Adaptors التي تتواسط ربط نوع الحمض الأميني بالرمز النوعي المشفر له. ولاحقاً، حدّدت هذه الملثِّمات أنها جزيئات رنا يبلغ حجمها 4S وطولها بين 70 و95 نوكلوتيداً، أطلق عليها اسم جزيئات الرنا الناقل Transfer RNAs (الشكل 6-11). تحتوي هذه الجزيئات على تتالي نوكلوتيدي ثلاثي، سُمي بالرمز المعاكس Anticodon، وهو متمم لتتالي أحد الروامز في جزيء الرنا المرسال، يتشافع معها خلال الترجمة. هنالك واحد إلى 4 جزيئات رنا ناقل لكل من أنواع الأحماض الأمينية العشرين. ترتبط الأحماض الأمينية بجزيئات الرنا الناقل عبر روابط عالية الطاقة بين المجموعات الكربوكسيلية للأحماض الأمينية والنهاية الهيدروكسيلية 3' لجزيئات tRNAs.

يتم تحميل Charging الحمض الأميني على جزيء الرنا الناقل عبر خطوتين يتواسطتهما نفس الإنزيم الذي يدعى Aminoacyl-tRNA Synthetase؛ يتم في الخطوة الأولى تفعيل الحمض الأميني مع حلقة جزيء ATP وفي الخطوة الثانية يتم ربط الحمض الأميني المفعّل إلى النهاية 3' للرنا الناقل. وأخيراً، يحدد التتالي النوكلوتيدي في الرامز المعاكس لجزيء الرنا نوعية كل من جزيء الرنا الناقل نفسه ونوع الحمض الأميني المحمّل عليه. أي وإن جاز التعبير، يقرأ إنزيم Synthetase السابق ذكره الرامز المعاكس للرنا الناقل، ويفهم من ذلك طبيعة الحمض الأميني الذي يجب تحميله على جزيء الرنا الناقل نفسه.

تُنتسخ جزيئات الرنا الناقل، كما هو الحال بالنسبة للرنا الريباسي، على شكل طلائع تخضع لاحقاً لعمليات عدّة كالشطر والمثيلة وتعديل بعض الأسس النوكلوتيدية. في الواقع، يحتوي جزيء الرنا الناقل على عدة نوكلوتيدات غير اعتيادية كالإنوزين Inosine والبسودويوريدين Pseudouridine والديهيدروبيوريدين Dihydrouridine ومثيل الغوانوزين 1-Methyl Guanosine، الناتجة جميعاً عن تحويل كيميائي للنوكلوتيدات الأساسية الأربع. حدّد التتالي النوكلوتيدي لجزيء الرنا الناقل وبنيتة المشابهة لورقة نبات البرسيم من قبل العالم Robert Holley الذي حاز بذلك جائزة نوبل في الفيزيولوجيا والطب عام 1965 (الشكل 6-11).

يقع الرامز المعاكس في عروة قرب وسط جزيء الرنا الناقل. ويتطلب تعرّف وتشافع Base Pairing الرامز المعاكس مع رامز الرنا المرسل النوعي له حساسيةً عالية تؤمنها البنية الفراغية لُوَحِيدَاتِ الريباسات الكبيرة، كما سنرى لاحقاً.



(الشكل 6-11) بنية جزيء الرنا الناقل.

4.6. أطوار ترجمة الرامز الوراثي Phases of Genetic Code Translation

بعد استعراض المكونات المختلفة الضرورية لاصطناع البروتين، يمكننا الآن تناول هذه العملية المعقدة بشيء من التفصيل، مع الأخذ بعين الاعتبار العناوين العريضة التالية:

- يحدّد التتالي النوكليوتيدي للرنا المرسل نوعية الأحماض الأمينية المندرجة في تسلسل عديد الببتيد.
- تبدأ ترجمة جزيئات الرنا المرسل عند رامز البدء AUG الذي تسبقه صُغُداً تتاليات تدعى التتاليات 5' غير المترجمة Untranslated أو 5' UTR، وتنتهي الترجمة عند إحدى روامز التوقف Stop Codons الثلاثة التي تليها نُزْلاً تتاليات تدعى التتاليات 3' غير المترجمة أو 3' UTR.
- تزود الريباسة عملية الاصطناع بالجزيئات الكبيرة الضرورية لعملية الترجمة.
- تمثّل جزيئات الرنا الناقل المُلَبَّمَات المناسبة لإدراج الأحماض الأمينية المناسبة لتسلسل روامز الرنا المرسل.

- تحتوي كل ريباسة على ثلاثة مواقع لارتباط الرنا الناقل؛ الموقع A أو Aminoacyl Site، ويربط الرنا الناقل الآتي إلى الريباسة والمحمل Charged بالحمض الأميني؛ والموقع P أو Peptidyl Site، الذي يربط الرنا الناقل المحمل بسلسلة عديد الببتيد الآخذة في الازدياد حجماً؛ والموقع E أو Exit Site، الذي يربط الرنا الناقل "الفارغ" المغادر للريباسة والخالي من الحمض الأميني.
 - تشترك بدائيات وحقيقيات النوى بمعظم تفاصيل وآليات الترجمة، مع وجود بعض الاختلافات، إن من حيث بنية الريباسات أو العوامل البروتينية المساعدة في هذه العملية.
 - تُقسم عملية اصطناع البروتين إلى ثلاثة أطوار؛ البدء والإطالة والإنهاء مع تحرر البروتين الناتج من معقد الترجمة Translation Complex.
- وسنتناول فيما يلي الأطوار الثلاثة المشكّلة لعملية الترجمة.

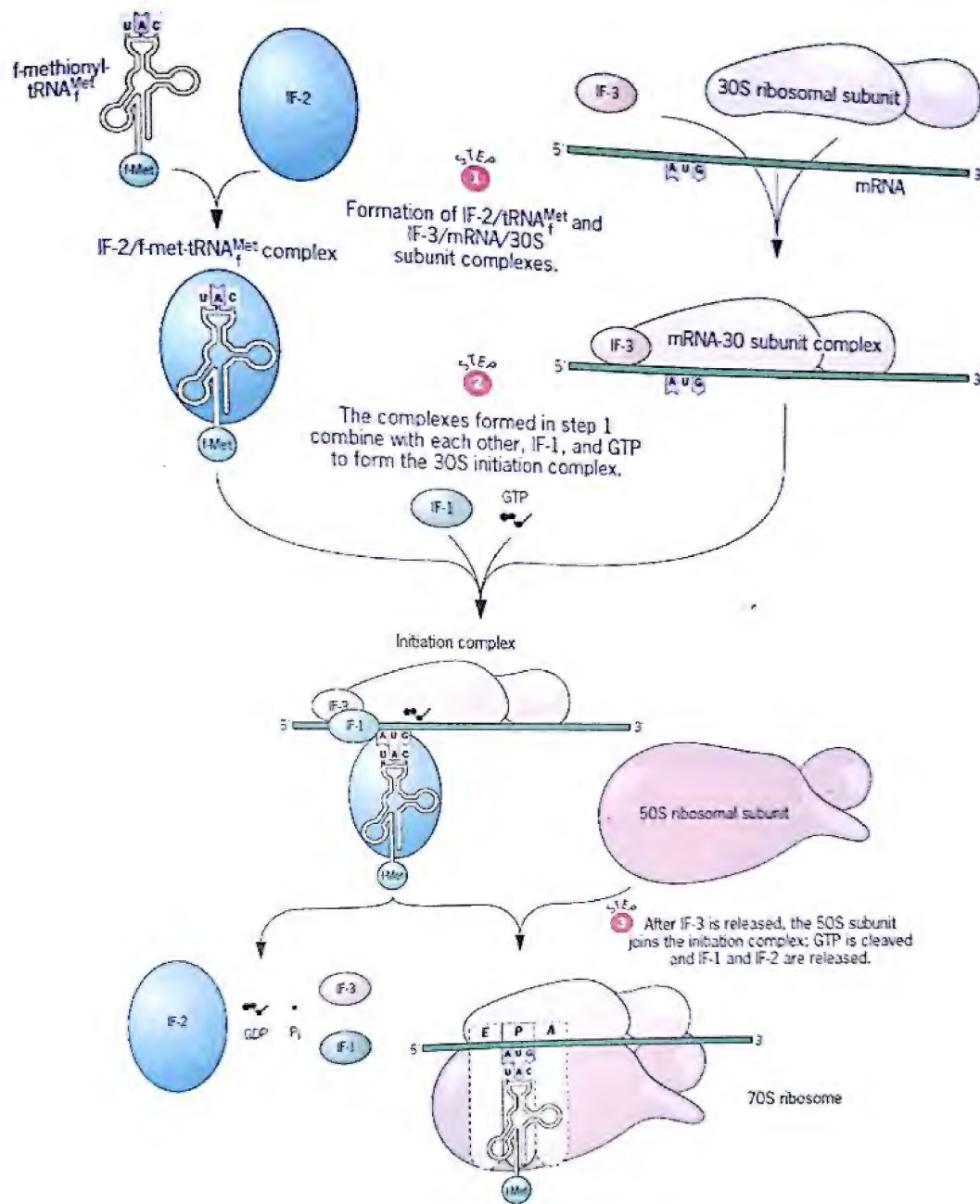
1.4.6. طور البدء Initiation Phase

يتضمن هذا الطور جميع الأحداث التي تسبق تشكّل الرابطة الببتيدية التي تربط بين الحمضين الأول والثاني في سلسلة عديد الببتيد. ويمكننا توصيف هذا الطور أولاً في بدائيات النوى قبل أن نسرّد بعض الاختلافات بينها وبين ما يحدث في حقيقيات النوى.

يتطلب البدء بعملية الترجمة في جراثيم *E. coli* الوحيدة 30S وجزء tRNA بادئ، ورنا مرسال، وثلاثة من عوامل البدء Initiation Factors هي IF1 و IF2 و IF3، وجزئاً واحداً من GTP (الشكل 6-12).

في المرحلة الأولى لبدء الترجمة تتأثر الوحدة الصغيرة 30S مع كل من جزئ الرنا المرسال وعوامل البدء. ثم تنضم إليها الوحدة الكبيرة 50S لتشكّل الوحدة الكاملة للريباسة 70S في الخطوة الأخيرة لطور البدء. يبدأ اصطناع عديد الببتيد بانخراط الرنا الناقل الأول المحمل بالحمض الأميني الميثيونين (Methionyl-tRNA) والحامل لتتالي الرامز المعاكس 5' AUG 3' المتمم والمقابل بالإشارة لرامز البدء 5' AUG 3'.

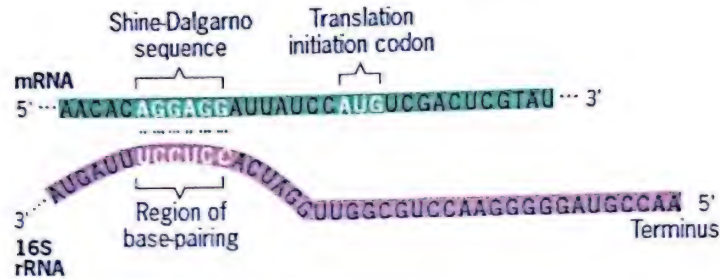
ملاحظة: تبدأ جميع عديدات الببتيد في بدائيات النوى بالحمض الأميني الميثيونين Methionine الذي أجري له تعديل بإضافة مجموعة فورميل ليصبح اسمه فورميل ميثيونين أو fMet. مع ذلك، يتم شطر الحمض الأميني الأول (الميثيونين) من عدد كبير من عديدات الببتيد لاحقاً لانتهاة الترجمة، وبذلك فليس من الضروري أن يكون الحمض الأول في جميع البروتينات الوظيفية هو الميثيونين.



(الشكل 6-12) طور بدء الترجمة.

يبدأ طور البدء بتشكيل معقدين اثنين؛ يضم الأول عامل البدء IF2 والرنا الناقل المحمل بالميثيونين، بينما يضم الثاني جزيء الرنا المرسال ووحيدة الريبوزوم 30S وعامل البدء IF3. يتحكم العامل IF3 بقدرة الوحيدة 30S بالبدء، ويعتمد تشكيل المعقد 30S مع الرنا المرسال على تشافع تتالي نوكلئوتيدي موجود عند النهاية 3' لـ 16S rRNA (المتضمن في 30S) مع تتالي نوكلئوتيدي موجود عند النهاية 5' للرنا المرسال يدعى بتتالي Shine Dalgarno نسبة لمكتشفه في القسم غير المترجم للرنا المرسال 5' Untranslated region.

أو اختصاراً 5' UTR (الشكل 6-13). ينضم لاحقاً معقد IF2 - ميثيونيل tRNA مع معقد mRNA-30S IF3 مع بعض ثم مع عامل البدء IF1 وجزء GTP لتشكيل معقد 30S الكامل. تكون الخطوة الأخيرة في طور البدء في انضمام الوحدة 50S إلى معقد 30S الكامل لتشكيل الريبوزوم 70S الذي يسبق تحرر عوامل البدء الثلاثة وحلمة جزئي GTP إلى GDP وفسفات لا عضوية (Pi).



(الشكل 6-13) تشافع تنالي Shine Dalgarno في الرنا المرسال مع التنالي المتم له في الرنا الريباسي 16S.

تقوم إضافة الوحدة 50S إلى المعقد بإرساء الميثيونيل tRNA في موقع الببتيديل P (P Site) حيث يتشافع الرامز المعاكس للرنا الناقل مع رامز البدء AUG. وهكذا، فإن الميثيونيل tRNA هو الرنا الناقل الوحيد الذي يدخل الريبوزوم في الموقع P بشكل مباشر دون المرور أولاً بالموقع A. وأخيراً، ومع تموضع رامز البدء للرنا المرسال في الموقع P، يكون الرامز التالي في الموقع A، مما يذهب لارتباطه برنا ناقل يحتوي على رامز معاكس نوعي له ويؤسس لطور الإطالة.

يكون طور البدء في حقيقيات النوى أكثر تعقيداً مما سبق، متضمناً الكثير من عوامل البدء. مع ذلك، فإن عملية بدء الترجمة تكون مماثلة بصورة عامة لتلك التي تحدث في بدائيات النوى مع استثناءين اثنين؛ (1) يكون الميثيونين غير معدّل في حقيقيات النوى، ولا يضاف له جذر الفورميل.

(2) يتشكّل معقد البدء في النهاية 5' للرنا المرسال دون وجود تنالي Shine Dalgarno، كما هو الحال في E. coli. في الواقع، تبدأ الترجمة في حقيقيات النوى عند أقرب تنالي AUG إلى النهاية 5' للرنا المرسال. يرتبط الميثيونيل tRNA مع عامل بدء ويدخل الموقع P مباشرة، كما هو الحال في E. coli. من جهة أخرى، يرتبط بروتين رابط للقلنسوة Cap-Binding Protein أو (CBP) إلى القلنسوة 7-methyl guanosine عند النهاية 5' للرنا المرسال (أنظر الفصل الخامس). إثر ذلك، ترتبط عوامل بدء أخرى إلى معقد CBP-mRNA ثم بوحدة 40S. يتحرّك كامل المعقد بالاتجاه 5' إلى 3' باحثاً عن رامز AUG، وحين يجده، تتحرر عوامل البدء من المعقد وترتبط بالوحدة 60S إلى معقد Methionyl-

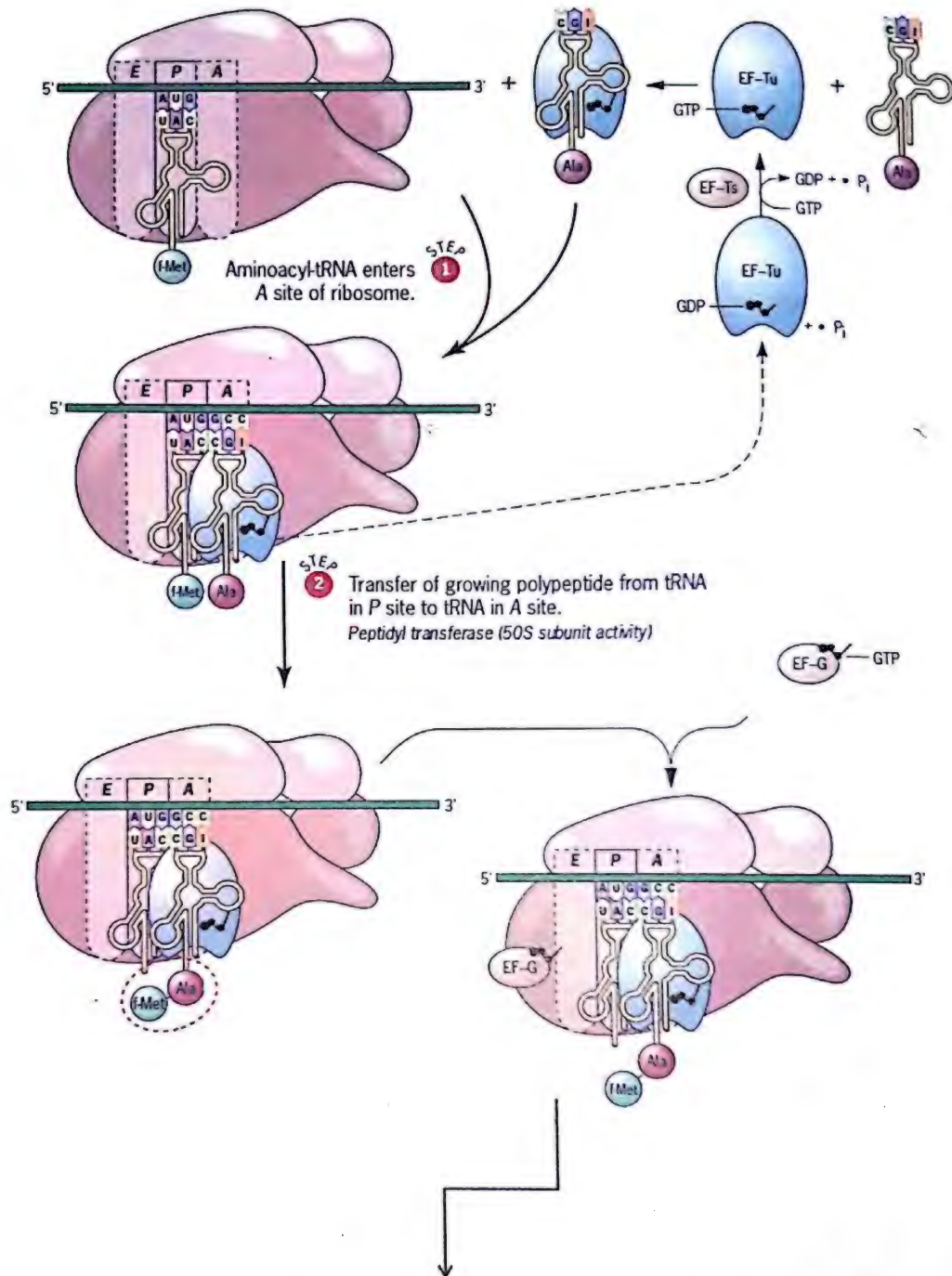
80S/mRNA/tRNA الريبوزوم الكامل. يكون المعقد 80S/mRNA/tRNA جاهزاً لطور الإطالة.

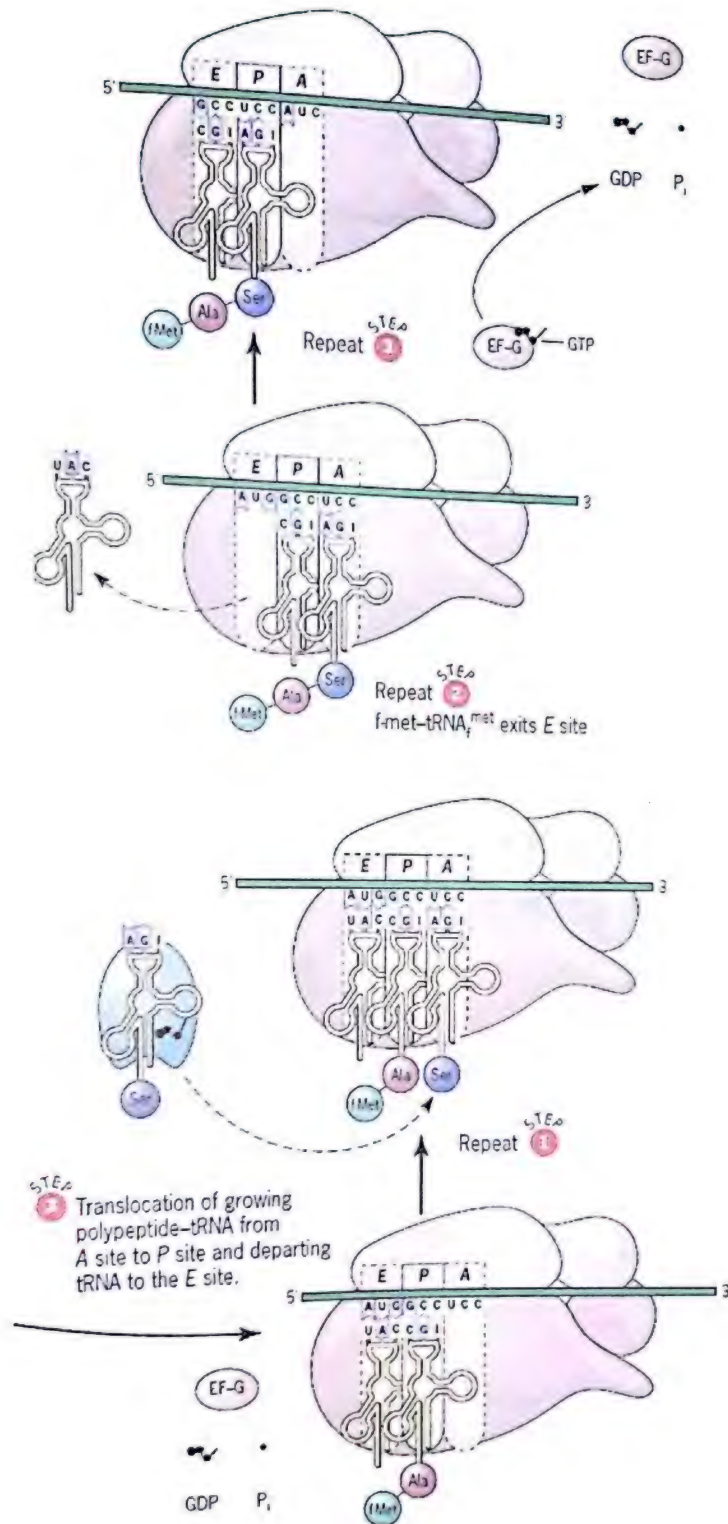
2.4.6. طور الإطالة Elongation Phase

يكون طور الإطالة نفسه عند كل من بدائيات وحقيقيات النوى مع اختلاف عوامل الإطالة Elongation Factors. تحدث إضافة كل من الأحماض الأمينية إلى سلسلة عديد الببتيد عبر ثلاث خطوات؛ (1) ارتباط الرنا الناقل المحمل بالحمض الأميني (Aminoacyl-tRNA) إلى الموقع A في الريباسة، (2) نقل سلسلة عديد الببتيد من جزيء الرنا الناقل في الموقع P إلى الرنا الناقل في الموقع A عبر تشكيل رابطة ببتيدية جديدة، (3) انتقال الريباسة على طول جزيء الرنا المرسل حيث يتوضع الرامز التالي في الموقع A. وفي هذه الخطوة الثالثة أيضاً، ينتقل الرنا الناقل المحمل بسلسلة عديد الببتيد من الموقع A إلى الموقع P، بينما ينتقل الرنا الناقل "الفارغ" من الموقع P إلى الموقع E (الشكل 6-14). تتم إعادة الخطوات الثلاث بشكل دورات متكررة خلال طور الإطالة.

في الخطوة الأولى في *E. coli*، يدخل أحد الـ Aminoacyl-tRNA الريباسة ويرتبط في الموقع A، وتحدد ذلك نوعية الرامز المعاكس الذي يملكه التي تمكنه من الارتباط إلى رامز الرنا المرسل الموجود في الموقع A. تتطلب هذه الخطوة عامل الإطالة Elongation Factor Tu أو EF-Tu الذي يحمل جزيء GTP. وبعد حلمهة الـ GTP يتحرر معقد EU-Tu-GDP من الريباسة. في الخطوة الثانية، يتم تشكيل رابطة ببتيدية بين النهاية الأمينية للحمض الأميني المحمل على الرنا الناقل في الموقع A والنهاية الكربوكسيلية لسلسلة عديد الببتيد المحمل في الموقع P، حيث تنتقل كامل السلسلة الببتيدية من الموقع P إلى الموقع A. يُحفز تشكيل الرابطة الببتيدية السابقة بتوسط الفعالية الإنزيمية الناقلة للببتيد Peptidyl Transferase Activity التي يتمتع بها جزيء الرنا الريباسي 23S rRNA المتضمن في الوحدة 50S. يتطلب تشكيل الرابطة الببتيدية أيضاً حلمهة جزيء GTP الذي أتى به عامل البدء EF-Tu في الخطوة الأولى.

ملاحظة: تكون الفعالية الإنزيمية المشكلة للرابطة الببتيدية هي في جزيء الرنا الريباسي 23S، وليس في البروتينات الريباسية، وهي إحدى الأمثلة الصارخة عن امتلاك جزيئات الرنا فعالية إنزيمية.





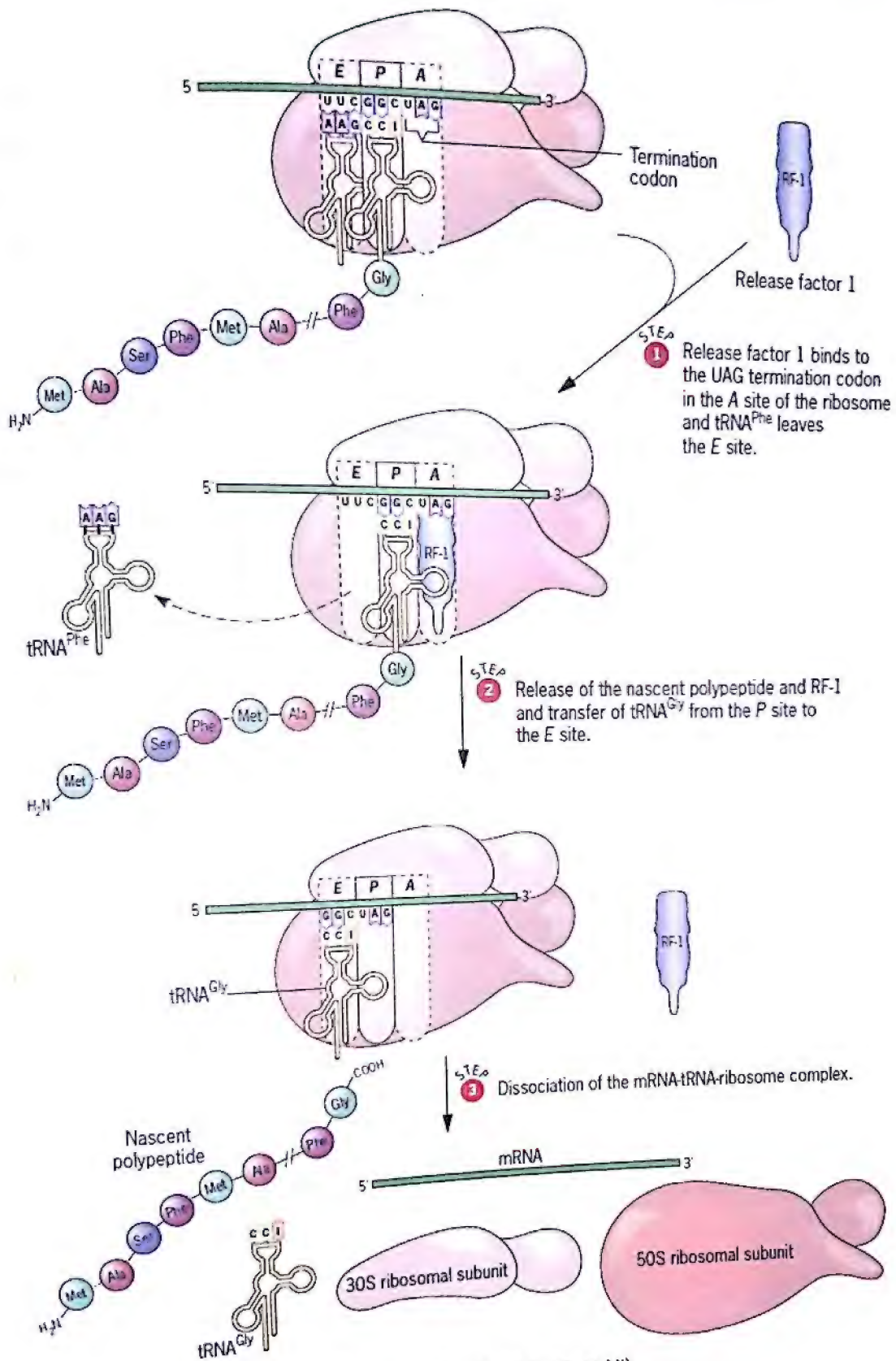
(الشكل 6-14) طور إطالة الترجمة. (ملاحظة: القسم الثاني من الشكل يسير من الأسفل إلى الأعلى)

خلال الخطوة الثالثة لطور الإطالة، ينتقل الرنا الناقل المحمّل بالبيتيد (أو Peptidyl-tRNA) الموجود في الموقع A إلى الموقع P، والرنا الناقل الفارغ إلى الموقع E. يحدث ذلك مع انتقال كامل معقد الريباسة 70S ثلاثة نوكليوثيدات باتجاه النهاية 3' للرنا المرسال. تتطلب خطوة الانتقال جزئي GTP وعامل الإطالة G أو EF-G. يحدث تغيير في هيئة Conformation الريبوزوم خلال عملية انتقاله على طول جزئي الرنا المرسال، وتؤمن حلمية جزئي الـ GTP الطاقة اللازمة لذلك. من جهة أخرى، يؤدي انتقال Peptidyl-tRNA من الموقع A إلى P إلى بقاء الموقع A شاغراً يحتوي فقط الرامز التالي للرنا المرسال الذي يستعد لاستقبال Aminoacyl-tRNA جديد يمتلك الرامز المعاكس النوعي له، وتبدأ بذلك دورة الإطالة التالية. وعلى الرغم من تعقيد الخطوات الثلاث، فإن هذه الخطوات تحدث بسرعة كبيرة جداً. ففي *E. coli*، تتطلب جميع الخطوات الثلاث (دورة إطالة) اللازمة لإضافة حمض أميني جديد واحد إلى سلسلة عديد البيتيد 0.05 جزءاً من الثانية. وهكذا، يتطلب اصطناع عديد بيتيد يحتوي 300 حمضاً أمينياً 15 ثانية فقط. ومع الأخذ بعين الاعتبار دقة وفعالية منظومة الترجمة، فإن ذلك يعدّ مذهلاً حقاً.

3.4.6. طور الإنهاء Termination Phase

ينتهي طور الإطالة حين يدخل أي من روامز التوقف Stop Codons الثلاثة (UAA, UGA, UAG) إلى الموقع A في الريبوزوم (الشكل 6-15). في الواقع، لا توجد أي جزيئات رنا ناقل تحتوي على روامز معاكسة يمكنها التشافع Base Pairing مع أي من روامز التوقف. وحين يصل أحد روامز التوقف إلى الموقع A، تتوقف الريباسة لفترة قصيرة جداً منتظرةً رنا ناقل محمّل بحمض أميني جديد، الذي لن يأتي. في غضون ذلك، تتعرف على روامز التوقف بروتينات تدعى بعوامل الإطلاق Release Factors أو RFs وتمتلك بنية فراغية شبيهة ببنية الرنا الناقل تمكنها من الدخول والارتباط في الموقع A. يوجد في جراثيم *E. coli* عاملاً إطلاق RF1 و RF2. يتعرف RF1 على الرامزين UAA و UAG ويتعرف RF2 على UAA و UGA، بينما يوجد في حقيقيات النوى عامل إطلاق وحيد Eukaryote RF أو eRF يتعرف على روامز التوقف الثلاثة. يغير ارتباط عامل الإطلاق في الموقع A فعالية الببتيد ترانسفيراز للـ 16S rRNA، إذ يضيف جزئي ماء إلى النهاية الكربوكسيلية لسلسلة الببتيد. يطلق هذا التفاعل عديد البيتيد من جزئي الرنا الناقل في الموقع P ويحفز انتقال الرنا الناقل الفارغ إلى الموقع E.

وأخيراً، يكتمل طور إنهاء الترجمة مع إطلاق جزئي الرنا المرسال من الريباسة وتفككها إلى وُحيدتيها المنفصلتين. تكون بعدها الوُحيدتان جاهزتين للشروع في عملية ترجمة جديدة للرنا المرسال نفسه أو رنا مرسال آخر يوجد قريباً.



(الشكل 6-15) طور إنهاء الترجمة.

5.6. مواقع الترجمة ومصير البروتين Translation Sites & Protein Destinies

تختلف مواقع ترجمة البروتينات في الخلية بحسب الموقع الفيزيائي للبروتين ومصيره داخل الخلية. ونكون هنا أمام عدة حالات نذكرها باختصار شديد.

- **البروتينات الهيولية**، ومثالها بروتينات الهيكل الخلوي: تحصل ترجمة هذه البروتينات على الريباسات الحرة في هيولى الخلية، وغالباً على الجسيمات المتعددة Polysomes المكونة من تجمع الريباسات على جزيء الرنا المرسال نفسه (الشكل 6-8 في الأعلى).
- **بروتينات المتقدرات والصانعات الخضراء**: تحصل ترجمة بعض بروتينات هاتين العُصَيَّتين على الريباسات الموجودة داخلهما، بينما تأتي الكثير من البروتينات الأخرى إليهما من هيولى الخلية بعد ترجمتها هناك وامتلاكها تسلسلات إشارية نوعية لهاتين العُصَيَّتين تتواسط توجه هذه البروتينات إليهما.
- **البروتينات المفرزة في حَقِيقَاتِ النوى**، ومثالها الإنسولين: تحصل ترجمة هذه البروتينات على الريباسات المرتبطة بأغشية الشبكة الهيولية الباطنة. ويجدر التأكيد هنا أن تشكّل معقّد الريباسة 80S مع الرنا المرسال المشفّر لهذه البروتينات والبدء بأولى خطوات الإطالة يحصل أولاً في هيولى الخلية ومن ثم يجلب النتالي الإشاري Signal Sequence في النهاية الأُمينية لعديد الببتيد معقّد الترجمة إلى أغشية الشبكة الهيولية الباطنة بسبب وجود مستقبل له على الغشاء يسهّل ارتباط معقّد الريباسة - الرنا المرسال - الرنا الناقل إلى غشاء الشبكة، حيث تستمر إطالة سلسلة عديد الببتيد مع دخوله إلى لمعة الشبكة الهيولية الباطنة. يتبع ذلك شطر الببتيد الإشاري بتواسط إنزيم Signal Peptidase وتحرر عديد الببتيد إلى داخل اللمعة ومن ثم طيّه Folding وانتقاله داخل الحويصلات إلى جهاز غولجي، ومن ثم إلى غشاء الخلية قبل أن يفرز عديد الببتيد إلى خارج الخلية.
- **بروتينات الجسيمات الحالة (اليحلولية)**: تحصل ترجمة هذه البروتينات بشكل مماثل للخطوة السابقة، أي كما في البروتينات المفرزة، مع فارق أن جهاز غولجي في حالة الجسيمات الحالة يُعلَب هذه البروتينات ضمن حويصلات لا تنتقل باتجاه غشاء الخلية، بل تبقى داخلها لتتشكّل لاحقاً الجسيمات الحالة نفسها.
- **البروتينات العابرة للغشاء الهولي Transmembrane Proteins**. تحصل ترجمة بروتينات الغشاء، ومعظم البروتينات الأخرى في أغشية العضيات، بشكل مشابه للبروتينات المفرزة. أي تبدأ الترجمة أولاً في الهيولى، ثم يتم جلب الريباسات إلى أغشية الشبكة الهيولية الباطنة. إلا أن الفارق

الجوهري بين البروتينات المفزة وبين البروتينات الغشائية يكمن في أن هذه الأخيرة تحتوي بدلاً من تتالي الإشارة على تتالي من الأحماض الأمينية الكارهه للماء يتواسط إرساء Anchoring البروتين الغشائي داخل غشاء الشبكة الهيولية الباطنة، لتتشكل لاحقاً حويصلات تحتوي هذه البروتينات في أغشيتها، وتنتقل لتتصهر لاحقاً مع الغشاء الهيولي.

خاتمة

تعرفنا في هذا الفصل إحدى أكثر الآليات الخلوية تعقيداً وإثارةً للدهشة، التي تحشد لها الخلية جزءاً كبيراً من جزيئاتها الكبيرة ومن طاقتها الإنتاجية وذلك لأهمية هذه العملية في اصطناع جميع بروتينات الخلية التي تقوم بوظائفها المتعددة والمتغيرة. وميزنا التشابه الكبير بين المراحل الأساسية للترجمة في كل من بدائيات وحقيقيات النوى، مع وجود بعض الاختلافات في العوامل الداعمة لهذه العملية.

الفصل السابع

ضبط وتنظيم التعبير الجيني

Regulation of Gene Expression

المحتويات Contents

- | | |
|---|---|
| <p>2.3.7. تحريض الفعالية الانتساخية بالعوامل البيئية والبيولوجية</p> <p>1.2.3.7. الحرارة وجينات الصدمة الحرارية</p> <p>2.2.3.7. جزيئات الإشارة: الجينات المستجيبة للهرمونات</p> <p>3.3.7. الضبط الجزيئي للانتساخ في حقيقيات النوى</p> <p>1.3.3.7. البروتينات المتورطة في ضبط الانتساخ</p> <p>2.3.3.7. تناليات الدنا المتورطة في ضبط الانتساخ</p> <p>4.3.7. الضبط اللاحق للانتساخ للتعبير الجيني عبر التداخل بالرنا</p> <p>5.3.7. التعبير الجيني وتنظيم المادة الصبغية</p> <p>1.5.3.7. الكروماتين الحقيقي والكروماتين المتغاير</p> <p>2.5.3.7. إعادة نمذجة الكروماتين</p> <p>1.2.5.3.7. أسئلة الهستونات</p> <p>3.5.3.7. مثيلة (أوتمثيل) الدنا</p> <p>5.3.7. تفعيل وتثبيط كامل الصبغيات</p> | <p>1.7. مقدمة</p> <p>2.7. تنظيم التعبير الجيني في بدائيات النوى</p> <p>1.2.7. التعبير الجيني الدائم والمحرض والكظوم</p> <p>2.2.7. التحكم الإيجابي والسليبي بالتعبير الجيني</p> <p>3.2.7. المشغلات أو المشغلات</p> <p>1.3.2.7. مشغل اللاكتوز</p> <p>2.3.2.7. مشغل التريبينوفان</p> <p>4.2.7. تنظيم التعبير الجيني على مستوى الترجمة</p> <p>5.2.7. آليات التنظيم ما بعد الترجمة</p> <p>3.7. تنظيم التعبير الجيني في حقيقيات النوى</p> <p>1.3.7. ضبط التعبير الجيني على مستويي الدنا والرنا</p> <p>1.1.3.7. الضبط على مستوى انتساخ الدنا</p> <p>2.1.3.7. التضفير البديل للرنا</p> <p>3.1.3.7. الضبط الهولي لثباتية الرنا المرسال</p> |
|---|---|

1.7. مقدمة

تعدّ آليات تنظيم التعبير الجيني Regulation of Gene Expression من أكثر آليات الوراثة الجزيئية تنوعاً، وربما أشدها تعقيداً في الخلية الحية. فجميع خلايا الكائنات عديدات الخلايا تحوي الجينات نفسها المتضمنة في شريط الدنا المتطابق بين جميع الخلايا. مع ذلك، يُعبّر عن كثير من الجينات بشكل تفاضلي بين خلايا النسيج المختلفة. فمثلاً، تفرز الخلايا بيتا البنكرياسية فقط الإنسولين بينما تختص الخلايا الكبدية بإنتاج بروتين الألبومين وعوامل التخثر من بين بروتينات أخرى كثيرة لا تنتجها أي من خلايا الجسم الأخرى.

وفي هذا السياق يبرز فارق جوهري بين الكائنات وحيدات الخلية Unicellular، ومنها بدائيات النوى والأوالي، وعديدات الخلية Multicellular، إذ يختلف التعبير عن الجينات بشكل جوهري. ففي جميع أفراد النوع الواحد لبدائيات النوى يختلف التعبير الجيني بين كائن وآخر حين يتعرض كلاهما لشروط بيئية مختلفة، بينما يختلف ذلك جذرياً في معظم الكائنات عديدات الخلايا التي تخضع خلاياها للتمايز، بحيث تحتفظ بعض أنواع الخلايا بنمط تعبير جيني مختلف كلياً عن النمط الخاص بخلايا أخرى.

ولا تزال كيفية تنظيم التعبير الجيني في الخلايا تشغل ذهن الباحثين منذ تأسيس مفهوم الجين في أوائل القرن الماضي حتى يومنا هذا، واقترح الكثير من الآليات الخلوية مدعومة بنتائج الأبحاث الوفيرة في العقود الماضية. سنسرد في هذا الفصل بعضاً من أهم آليات تنظيم التعبير الجيني في بدائيات وحقيقيات النوى، كل على حدة.

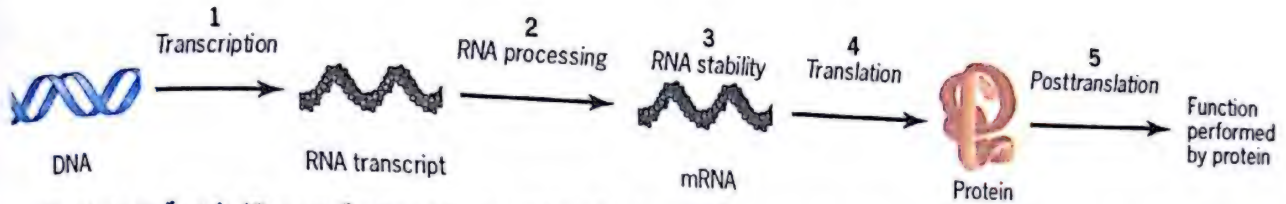
2.7. تنظيم التعبير الجيني في بدائيات النوى

Regulation of Gene Expression in Prokaryotes

تبدى الأحياء الدقيقة مقدرة مذهلة على التكيف مع الظروف البيئية المتغيرة، وتعتمد في ذلك جزئياً على قابلية تشغيل Turn on أو إيقاف Turn off التعبير عن مجموعات معينة من الجينات استجابةً إلى تلك البيئة، حيث يتم تشغيل تلك الجينات حين تكون مطلوبة للنمو وإيقافها حين لا يعود ذلك ضرورياً. يتطلب انتساخ الرنا RNA وتصنيع البروتينات الناتجة عن ترجمته صرف مقدار هائل من الطاقة. وهكذا، وعن طريق إيقاف التعبير عن بعض الجينات غير الضرورية يتمكّن الكائن الحي من توفير تلك الطاقة وتعظيم الاستفادة منها بالصورة الأمثل التي تقتضيها مرحلة النمو.

ويتم تنظيم التعبير الجيني في بدائيات النوى على عدة مستويات تظهر في (الشكل 7-1) : الانتساخ، ومعالجة الرنا RNA Processing، وتدرج الرنا RNA Turnover، والترجمة، وعمليات لاحقة للترجمة.

مع ذلك، تكون الآليات المنظمة الأكثر تأثيراً في النمط الظاهري Phenotype للكائن الحي هي على مستوى الانتساخ بشكل أساسي.



(الشكل 7-1). مستويات تنظيم التعبير الجيني في الخلية الحية. (1) الانتساخ (2) معالجة الرنا (3) ثباتية الرنا (4) الترجمة (5) التعديلات اللاحقة للترجمة.

يمكن تصنيف الآليات المنظمة في فئتين اثنتين:

- الآليات التي تكتنف التشغيل أو الإيقاف السريع للتعبير الجيني، وهي مهمة بسبب التعرض المتكرر للكائن الحي للتغيرات البيئية المفاجئة. تزود هذه الآليات الأحياء الدقيقة بكثير من المطاوعة أو اللدونة Plasticity، وهي قابلية تعديل العمليات الاستقلابية بشكل سريع لتحقيق النمو الأعظمي والتكاثر تحت مجال واسع من الشروط البيئية.
- الآليات التي يُشار إليها بتعبير الدارات مسبقة البرمجة Preprogrammed Circuits أو شبلاطات Cascades من التعبير الجيني. وفي هذه الحالة، تقدح بعض الحوادث زناد التعبير عن مجموعة معينة من الجينات، حيث يوقف منتج أحد تلك الجينات التعبير عن الجينات الأولى أو السابقة لتفعيل جينته أو يشغل انتساخ مجموعة أخرى من الجينات اللاحقة لها. بعد ذلك، يشغل أحد منتجات المجموعة الثانية من الجينات مجموعة ثالثة أخرى، وهكذا. وفي هذه الحالات، يكون التعبير المتعاقب عن بعض الجينات مبرمجاً مسبقاً، حيث لا يمكن أن تشغل بعض الجينات خارج هذا التتالي. وهذا النموذج من تفعيل الانتساخ موثق في الكثير من بدائيات النوى والفيروسات التي تتغذى عليها وتعمل على حلها وتحطيمها، التي يطلق عليها اسم عائيات الجراثيم Bacteriophages. فحين يُعدي أحد فيروسات العائيات خلية جرثومية، يتم التعبير عن جينات الفيروس بصورة مبرمجة مسبقاً، حيث يرتبط ذلك بمدى مشاركة بعض الجينات في تكاثر الفيروس.

1.2.7. التعبير الجيني الدائم والمحرض والكظوم

Induced and Repressible Gene Expression, Constitutive

يمكن تصنيف الجينات التي يتم تنظيم التعبير عنها عموماً إلى ثلاثة أصناف: جينات دائمة التعبير Constitutive Genes، جينات محرّضة التعبير Inducible Genes، وجينات كظومة التعبير Repressible Genes.

يُشار إلى الكثير من منتجات الجينات، كجزيئات الرنا الناقل tRNA والرنا الريباسي rRNA، والبروتينات الريباسية، ووَحيدات إنزيم بوليميراز الرنا RNA Polymerase، والإنزيمات المحفزة للعمليات الاستقلابية، على أنها منتجات لجينات خَدَمِيَّة Housekeeping genes تقوم بخدمة الخلية في التعبير عن جميع بروتيناتها الضرورية والقيام بمجمل عملياتها الحيوية. وهذه المكونات ضرورية في جميع أنواع الخلايا الحية، حيث يستمر التعبير عن الجينات المسؤولة عن إنتاجها في جميع الأوقات، ويشار إليها بالجينات دائمة التعبير Constitutive Genes.

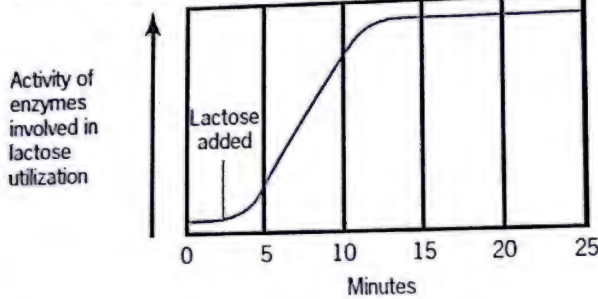
من جهة أخرى، تكون منتجات لجينات أخرى ضرورية لنمو الخلية فقط تحت ظروف بيئية محددة، بحيث يكون التعبير الدائم عن هذه الجينات مضيعة للوقت ولطاقة الخلية التي يجب أن تُصَرَف بالشكل الأمثل. وقد تطور الكثير من الآليات التي تمكن الخلية من تنظيم التعبير عن هذه الجينات بحيث تنتسخ فقط حين الحاجة إليها، وهوما يفسر كون الجراثيم والفيروسات تُبدي آليات فاعلة وكفوءة جداً في تنظيم وضبط التعبير الجيني. على سبيل المثال، تبدي جراثيم الإشريكية القولونية *Escherichia coli*، أو اختصاراً *E. coli*، ومعظم الجراثيم الأخرى قدرة على النمو باستخدام الكثير من السكاكر، مثل الغلوكوز، والسكروز، والغالكتوز، والأرابينوز، واللاكتوز كمصدر للطاقة. فإذا توافر الغلوكوز في الوسط التي تنمو فيه الجراثيم يتم استقلابه بصورة مفضلة عن غيره من السكاكر. لكن، في غياب الغلوكوز تكون الجراثيم قادرة أيضاً على النمو بشكل جيد مستعملة سكاكر أخرى. فالخلايا التي تنمو في وسط يحتوي على اللاكتوز كمصدر كربوني وحيد للطاقة تنتج اثنين من الإنزيمات الضرورية لذلك هما الغالاكتوزيداز Galactosidase والغالكتوزيد بيرميزاز Galactoside Permease وهما ضروريان جداً لعملية تحطيم اللاكتوز. يقوم إنزيم الغالاكتوزيد بيرميزاز بضخ Pump اللاكتوز من خارج الخلية إلى داخلها، بينما يشطر إنزيم الغالاكتوزيداز اللاكتوز إلى الغلوكوز والغالكتوز. ومن البديهي، أن كلا الإنزيمين غير ضروريين إن لم يكن اللاكتوز موجوداً في الوسط الذي تنمو فيه الخلية، مع التذكير أن اصطلاح هذين الإنزيمين يتطلب قدراً لا بأس به من الطاقة. وهكذا، تطورت آليات منظّمة في جراثيم *E. coli* حيث يتم تشغيل الإنزيمات المحطّمة للاكتوز في حال وجوده وإيقافها في حال غيابه. وفي البيئات الطبيعية، كلمعة الأمعاء ومياه الصرف الصحي، لا تواجه جراثيم *E. coli* بصورة متكررة غياب الغلوكوز ووجود اللاكتوز. ولذلك، يتوقف التعبير عن الجينات المسؤولة عن استقلاب وتحطيم

اللاكتوز في معظم الأوقات. لكن، إذا تم نقل هذه الجراثيم إلى وسط يحتوي اللاكتوز فقط، عندها تقوم الجراثيم سريعاً بتصنيع الإنزيمات اللازمة لاستقلاب اللاكتوز (الشكل 7-2a) تدعى هذه العملية التي يُشغَّل فيها التعبير عن جينات اللاكتوز بعملية التحريض Induction، وتدعى الجينات التي يتم تنظيمها بهذه الطريقة بالجينات المحرّضة Inducible Genes وإنزيماتها المنتجة بالإنزيمات المحرّضة Inducible Enzymes.

وعموماً، فإن الإنزيمات التي تكتنف سبل التقويض Catabolic Pathways، مثل تلك المشاركة في تمثّل Utilization واستقلاب اللاكتوز والغالكتوز والأرابينوز، تكون محرّضة. ويتم تنظيم التحريض عادةً على مستوى انتساخ جينات تلك الإنزيمات وليس على مستوى تفعيل الإنزيمات نفسها، وهي الحالة التي تحصل حين يرتبط جزيء معيّن بالإنزيم بعد إنتاجه وترجمة الرنا المرسال الخاص به مؤدياً إلى زيادة فعالية الإنزيم نفسه.

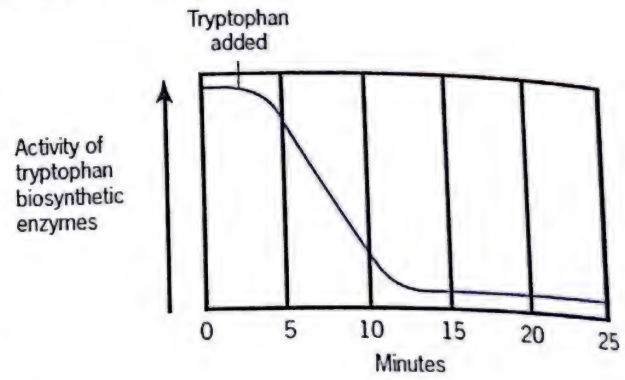
من جهة أخرى، يمكن للجراثيم أن تصطنع معظم المركبات العضوية الضرورية للنمو، مثل الأحماض الأمينية، والبورينات، والبيرييميدينات، والفيتامينات. على سبيل المثال، يحتوي مَجِين E. coli الـ Genome على خمس جينات يتم التعبير عنها في غياب الحمض الأميني التريبتوفان، وهي المسؤولة عن الاصطناع الحيوي Biosynthesis لهذا الحمض الأميني بحيث تُنتج مقداراً كافياً منه لاصطناع البروتينات التي تحتويه في بنيتها الأولية. وعندما تعيش الجراثيم في بيئة غنية بالتريبتوفان يكون التعبير المستمر عن الجينات الخمس اللازمة لاصطناعه هدراً للطاقة. وهكذا، تطورت أيضاً آلية منظّمة في E. coli لإيقاف التعبير عن الإنزيمات الضرورية لاصطناع التريبتوفان حين توفر مصادره خارج الخلايا (الشكل 7-2b). تدعى الجين التي يوقّف التعبير عنها بالجين المُكظّمة Repressed Gene، وتدعى هذه الاستجابة بالكظم Repression. وعندما يُشغَّل التعبير عن هذه الجين، يسمى ذلك بإزالة الكظم Derepression. وعموماً، تكون الإنزيمات المسؤولة عن سبل البناء Anabolism Pathways غالباً كظومة Repressible. يكون الكظم، كما في حال التحريض، هو على مستوى انتساخ الجينات. ومن المهم هنا ألا يتم الخلط بين عملية الكظم وبين عملية التثبيط الراجع السلبي Feedback Inhibition، التي تحدث حين يرتبط وينتج ما لسبيل استقلابي معيّن أحد الإنزيمات المسؤولة عن ذلك السبيل، ولا يؤثر في اصطناع الإنزيم نفسه.

Induction of enzyme synthesis



(a)

Repression of enzyme synthesis



(b)

(الشكل 7-2). تغير تراكيز الإنزيمات المتورطة باصطناع اللاكتوز (a) كمثال عن تحريض اصطناع الإنزيمات، والتربتوفان (b) كمثال عن تثبيط اصطناع الإنزيمات.

2.2.7. التحكم الإيجابي والسلبي بالتعبير الجيني Positive and Negative Control of Gene Expression

يمكن أن ينظم تحريض أو كظم التعبير الجيني عبر آليات تحكم إيجابي أو سلبي تشتمل أي منها على مساهمة جينات منظّمة Regulator Genes ترمز بروتينات تنظم التعبير عن جينات أخرى. في آليات التحكم الإيجابي، يكون منتج الجين المنظّمة ضرورياً لتشغيل التعبير عن واحدة أو أكثر من الجينات البنيوية Structural Genes المنتجة للبروتينات، بينما في آليات التحكم السلبي، يكون منتج الجين المنظّمة ضرورياً لإيقاف التعبير عن تلك الجينات البنيوية. ويوضح الشكل 7-3 التنظيم الإيجابي والسلبي لكل من المنظومات المحرّضة والمكظّمة. ولشرح ذلك سنتحدث هنا عن إنزيم بوليميراز الرنا الذي يرتبط إلى منطقة المحضض ويقوم أنتساخ الرنا. يعمل منتج الجين المنظّمة عبر ارتباطه إلى موقع يدعى بموقع ربط البروتين المنظّم Regulator Protein-Binding Site أو (RPBS) المجاور لمحضض Promoter الجين البنيوي. وحين يرتبط البروتين المنظّم بموقع RPBS، يتم تشغيل التعبير عن الجين البنيوي في منظومة التحكم الإيجابي أو يتم إيقاف التعبير عن الجين البنيوي في منظومة التحكم السلبي. وتدعى منتجات الجين المنظّمة بالمفعّلات Activators في منظومة التحكم الإيجابي لأنها تفعل أنتساخ الجين البنيوي، وبالكاظمات Repressors في منظومة التحكم السلبي لأنها تكظم أنتساخ ذلك الجين. ويعتمد ارتباط البروتينات المنظّمة بموقع RPBS على وجود أو غياب عدد من الجزيئات الفاعلة Effector Molecules داخل الخلية.

تكون الجزيئات الفاعلة جزيئات صغيرة الوزن الجزيئي كالأحماض الأمينية ونواتج استقلاب (أو مستقبلات) Metabolites أخرى، وتقسم إلى قسمين اثنين: جزيئات فاعلة تساهم في تحريض التعبير الجيني تدعى بالمرحّضات Inducers، وجزيئات فاعلة تساهم في كظم التعبير الجيني تدعى تمائم الكاظمات CO-repressors. ترتبط الجزيئات الفاعلة، سواءً كانت محرّضات أم تمائم الكاظمات، ببروتينات الجين المنظمة، المفعّلات أو الكاظمات، مؤديةً إلى تغييرات مهمة في البنى ثلاثية الأبعاد 3D Structures لهذه البروتينات مما ينعكس حتماً على قدرتها على الارتباط إلى المواقع النوعية لها على شريط الدنا قرب محضّضات الجينات التي تتحكّم هذه المفعّلات والكاظمات بالتعبير عنها. وسنرى فيما يلي أربعة آليات ممكنة لتنظيم التعبير الجيني بوجود أو غياب العوامل المنظمة السابقة.

- في آلية التحكم المحرّض السلبي (الشكل 3-7 أعلى يسار)، يرتبط الكاظم بشكله الحر غير المرتبط بالمحرّض إلى موقع RPBS، ويمنع التعبير عن الجين البنيوي في غياب المحرّض. وحين يوجد المحرّض، عندئذ يرتبط الكاظم بالمحرّض، ولا يمكن عندها لمعقد كاظم محرّض الارتباط Repressor-Inducer Complex بموقع RPBS. عندها فقط يمكن لإنزيم بوليميراز الرنا أن يرتبط بمحضّض الجين البنيوي، ويقوم أنتساخ الرنا المرسال الخاص بذلك الجين.
- في آلية التحكم المحرّض الإيجابي (الشكل 3-7 أعلى يمين)، لا يمكن للمفعّل الارتباط بموقع RPBS ما لم يكن المحرّض متوافراً، ولا يمكن لإنزيم بوليميراز الرنا أن ينتسخ الجين البنيوي ما لم يكن معقد المفعّل-المحرّض Activator-Inducer Complex مرتبطاً بموقع RPBS. وهكذا، يتم تشغيل انتساخ الجينات البنيوية فقط في حضور المحرّض.
- في الآلية المنظمة الكاظمة السلبية (الشكل 3-7 أسفل يسار)، يحدث انتساخ الجين البنيوي في غياب تميم الكاظم Co-repressor، ولا يحدث في حضوره. فعندما يكون معقد الكاظم - تميم الكاظم Repressor-Corepressor Complex مرتبطاً بموقع RPBS فهو بذلك يمنع بوليميراز الرنا من انتساخ الجين البنيوي. أما في غياب تميم الكاظم، لا يمكن للكاظم الارتباط بموقع RPBS، وبذلك، يستطيع بوليميراز الرنا الارتباط بالمحضّض وينتسخ الجين البنيوي.
- في الآلية المنظمة الكاظمة الإيجابية (الشكل 3-7 أسفل يمين)، يجب أن يرتبط منتج الجين المنظمة، أو المفعّل Activator، بموقع RPBS حتى يتمكن بوليميراز الرنا من الارتباط بالمحضّض وانتساخ الجين البنيوي. وعندما يكون تميم الكاظم موجوداً ومتوافراً، يشكّل معقداً مع البروتين المفعّل، وبذلك لا يتمكن معقد المفعّل - تميم الكاظم Activator-Corepressor

Complex من الارتباط بموقع RPBS، ومن ثم لا يتمكّن بوليميراز الرنا من الارتباط مع المحضّض.

وحتى نُجمل تفاصيل هذه الآليات المنظمة الأربع سنركّز على الاختلافات الجوهرية فيما بينها:

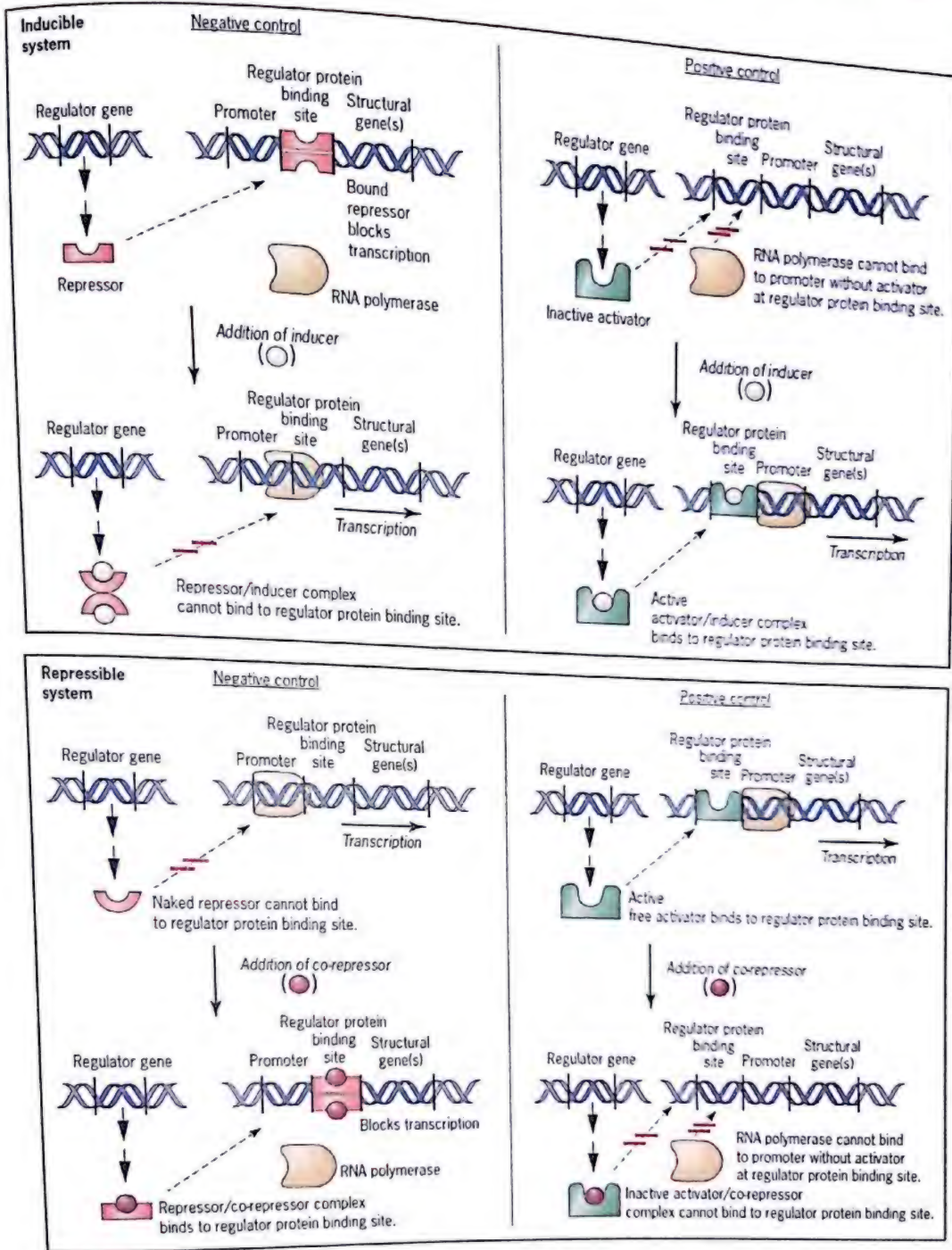
1. يشارك منتج الجين المنظمة (المفعّل Activator)، في تشغيل التعبير الجيني في آلية التحكم الإيجابي، بينما يشارك منتج الجين المنظمة (الكاظم Repressor) في إيقاف التعبير الجيني في آلية التحكم السلبي.

2. في كل من آليتي التحكم الإيجابي والسلبي، يعتمد كون التعبير الجيني محرّضاً أو مُكظماً على ارتباط البروتين المنظم، الذي يكون إما بشكله الحر أو بشكله المكوّن لمعقد البروتين المنظم - الجزيء الفاعل Regulator Protein-Effector Molecule Complex، بموقع RPBS.

وسنذكر فيما يلي بعض الأمثلة عن عمل هذه البروتينات المنظمة والجزيئات الفاعلة في بدائيات النوى، التي من أهمها على الإطلاق نموذج المشغلات أو المشغلات Operons الذي اكتشفه العالمان الفرنسيان Francois Jacob و Jacques Monod اللذان حازا جائزة نوبل في الفيزيولوجيا والطب عام 1965 لتمكّنها من تحديد عناصر التحكم بالتعبير الجيني لاصطناع عدد من إنزيمات الجراثيم، وبحيث عُدّ اكتشافهما لعناصر التحكم تلك سبقاً علمياً مهماً مهّد السبيل للكثير من الاكتشافات المثيرة لآليات التحكم بالتعبير الجيني في بدائيات النوى.

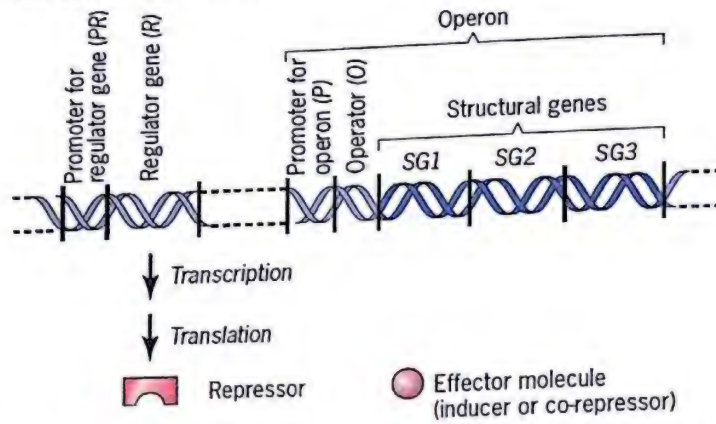
3.2.7. المشغلات أو المشغلات Operons: نموذج عن آليات التحكم السلبية

كشف العالمان جاكوب ومونو أن التعبير الجيني لمجموعة من الجينات المتجاورة يتم التحكم به بعنصرين اثنين (الشكل 7-4). أول هذين العنصرين هو جين كاظمة، ترمّز بروتيناً كاظماً، يرتبط تحت شروط معينة بالعنصر الثاني وهو موقع التشغيل Operator. يكون موقع التشغيل دائماً مجاوراً للجينات البنيوية التي يتم التحكم بالتعبير عنها. وتحتوي بعض المشغلات، كما سنرى في مثال مشغل اللاكتوز Lac Operon على عدة مواقع تشغيل متتالية، لكن وللتبسيط سنتحدث هنا فقط عن موقع واحد.



(الشكل 3-7). الفروقات بين منظومتى التحريض والكظم في حالتى الضبط السلبى والإيجابى. (أعلى يسار) يعمل المحرض Inducer على منع ارتباط الكاظم مع موقعه على الدنا مما يسمح بارتباط بوليميراز الرنا بالمحفّض Promoter والشروع بالانتساخ. (أعلى يمين) يؤدي ارتباط المحرض Inducer بالمفعل Activator إلى تحريض ارتباط الأخير بالدنا وتسهيل ارتباط بوليميراز الرنا بالمحفّض والشروع بالانتساخ. (أسفل يسار) يؤدي ارتباط تميم الكاظم Co-repressor بالكاظم Repressor إلى تثبيط ارتباط بوليميراز الرنا بالمحفّض وتثبيط الانتساخ. (أسفل يمين) يؤدي ارتباط تميم الكاظم إلى منع ارتباط المفعل Activator بالدنا، ومن ثم تثبيط ارتباط بوليميراز الرنا بالمحفّض وتثبيط الانتساخ.

The operon: components



(الشكل 7-4). مكونات جملة المشغل. من اليسار إلى اليمين الجين المنظم مع محضضها، محضض الجينات البنيوية، موقع التشغيل Operator، الجينات البنيوية المتضمنة في المشغل، إضافة إلى الكاظم والجزيء الفاعل (محرّض أو تميم كاظم).

يبدأ الانتساخ عند المحضض الذي يقع صعداً Upstream بالنسبة للجينات البنيوية. ولدى ارتباط الكاظم بموقع التشغيل Operator، فهو يعيق فراغياً بوليميراز الرنا من انتساخ الجينات الواقعة في المشغل. وتقع مواقع التشغيل عادةً ما بين المحضضات وجيناتها البنيوية. وهكذا، تحتوي وحدة المشغل المتكاملة كلاً من الجينات البنيوية وموقع التشغيل والمحضض. يمكن تمييز المشغلات المحرّضة عن تلك المُكظّمة عبر تحديد ما إذا كان الكاظم الحر أو معقد الكاظم - الجزيء الفاعل مرتبطاً بموقع التشغيل.

- ففي حال المشغل المحرّض، يرتبط الكاظم الحر إلى موقع التشغيل ويوقف الانتساخ في غياب المحرّض (الشكل 7-5 يسار).

- ينعكس الحال في المشغلات المُكظّمة، بحيث لا يتمكّن الكاظم الحر من الارتباط بموقع التشغيل، بل يمكن فقط لمعقد الكاظم - الجزيء الفاعل (أو تميم الكاظم) أن يرتبط بموقع التشغيل (الشكل 7-5 يمين). وما عدا ذلك تكون المشغلات المحرّضة والمكظّمة متطابقة كلياً.

يحمل جزيء رنا مرسال واحد المعلومات المشفرة لجميع الجينات البنيوية في المشغل. على سبيل المثال، يحتوي مشغل التريبتوفان عند *E. coli* على التتالي المشفر لخمس جينات مختلفة. وبسبب أنها تنتسخ معاً، يتم التعبير عن جميع الجينات البنيوية في المشغل الواحد بشكل متناسق، وبحيث تبقى تراكيز بروتيناتها متساوية نسبياً داخل الخلية.

1.3.2.7. مشغل اللاكتوز Lac Operon: نموذج عن المشغلات المتواسطة لسبل التفويض Catabolic Pathways

يُعدّ مشغل اللاكتوز من أكثر الأمثلة وضوحاً عن التحكم في التعبير عن ثلاث جينات بنيوية تسهم نواتجها في استقلاب سكر اللاكتوز، وهي أنزيمات الـ β -Galactosidase (z) و Permease (y) و Transacetylase (a). يقوم إنزيم البيرمياز كما أشرنا سابقاً بضخ اللاكتوز إلى داخل الخلية الجرثومية بينما يقوم إنزيم البيتاغالاكتوزيداز بدورين اثنين (الشكل 7-6)؛ من جهة يشطر اللاكتوز إلى سكره الوحيدين الأساسيين، الغلوكوز والغالاكتوز، ومن جهة أخرى يحول جزءاً من اللاكتوز إلى مركب الألولاكتوز، الذي يقوم بدور المحرّض Inducer في مشغل اللاكتوز.

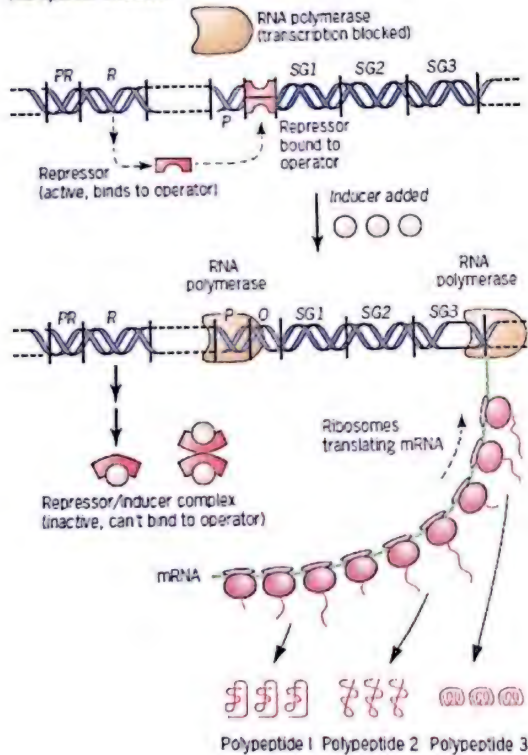
يتم التحكم بمشغل اللاكتوز عن طريق موقع تشغيل (O) يقوم بتنشيط اصطناع الأنزيمات الثلاثة بغياب اللاكتوز، وعبر التعبير عن جين (Lac I) التي ترمّز لكازمة بروتينية ترتبط بموقع التشغيل لمنع توضع إنزيم بوليميراز الرنا الناسخ لجينات المشغل على المحضّض الملاصق لموقع التشغيل. أما بوجود اللاكتوز، ومن ثم وجود كمية من الألولاكتوز كمحرّض Inducer، وبروز الحاجة للتعبير عن الإنزيمات اللازمة لاستقلاب اللاكتوز؛ يرتبط الألولاكتوز بالكازم، ويسبب تغييراً في هيئته Conformation وبنيته الثالثة بحيث لا يتمكن من الارتباط بموقع التشغيل، ومن ثم ينتفي تأثيره الكازم لانتساخ جينات استقلاب اللاكتوز (الشكل 7-7).

تجدر الإشارة إلى أنه يوجد دائماً تعبير طفيف جداً لكل من الجينات الثلاث حتى بغياب اللاكتوز، الأمر الذي يفسر وجود كمية ولو قليلة جداً من إنزيم البيرمياز الذي يضخ اللاكتوز فور توفره إلى داخل الخلية، وإنزيم البيتا غالاكتوزيداز، الذي يحول اللاكتوز إلى الألولاكتوز الذي يشرع في الارتباط بالكازم Lac I وتشغيل مشغل اللاكتوز.

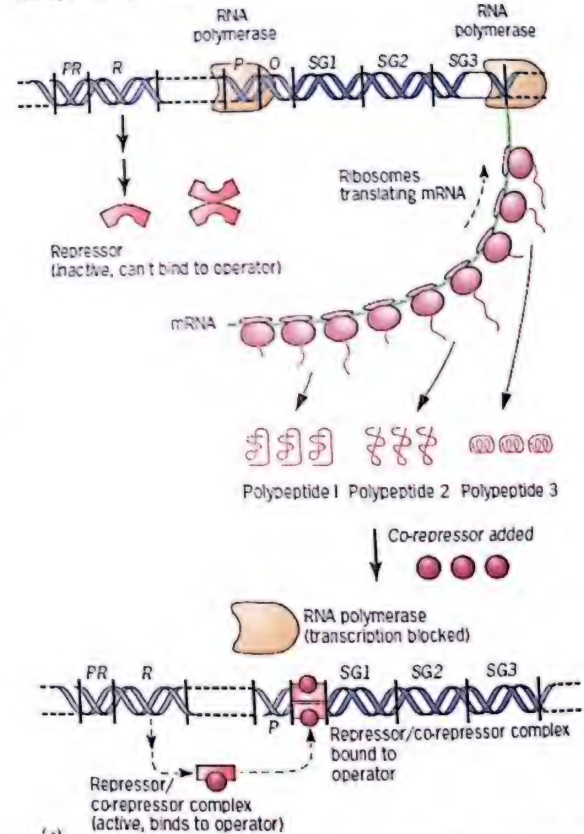
وأخيراً، لا بدّ من التنكير أن الجراثيم تفضّل سكر الغلوكوز عن سكر اللاكتوز، أي إنه حتى يتم تفعيل مشغل اللاكتوز لا بدّ أن يجري ذلك بغياب سكر الغلوكوز. فكيف تترك الخلية غياب الغلوكوز؟ جاء الجواب عن ذلك بالكشف عن آلية ممتعة تعتمد على وجود تتال نوكليريدي متوضع صعوداً Upstream ومجاور لتتالي المحضض الخاص بمشغل اللاكتوز. يمثل هذا التتالي موقعاً لارتباط أحد عوامل الانتساخ Transcription Factors، يدعى Catabolite Activated Protein أو CAP، الضرورية لانتساخ الجينات البنيوية في المشغل. يتحول هذا العامل من شكله غير الفعال إلى الشكل الفعال المرتبط بالدنا بعد ارتباطه بالـ cAMP، وبحيث تطرأ على بروتين CAP تغيرات في هيئته تمكّنه من الارتباط بموقعه على شريط الدنا والقيام بعمله في تثبيت إنزيم بوليميراز الرنا والشروع أنتساخ الجينات البنيوية في مشغل اللاكتوز. من جهة أخرى، ترتبط

تراكيز الـ cAMP بشكل مباشر بمستوى الغلوكوز في الوسط التي توجد فيه خلايا الـ *E. coli*، بحيث تنخفض مستويات الـ cAMP بشدة لدى وجود الغلوكوز وترتفع بغيابه. في الواقع، إن غياب الغلوكوز يقلل من كمية الطاقة التي تنتج في الخلية الجرثومية، ويؤدي إلى حلمة معظم جزيئات الـ ATP إلى ADP، ومن ثم AMP الذي يتحول أخيراً إلى cAMP بواسطة إنزيم Adenylate Cyclase (الشكل 7-8). ولدى غياب الغلوكوز ترتفع مستويات الـ cAMP كثيراً مما يؤدي إلى تفعيل عامل الانتساخ وتسهيل ارتباط بوليميراز الرنا وانتساخ الجينات البنيوية في المشغل. وهكذا، فإن تشغيل مشغل اللاكتوز لا يحدث إلا في حال وجود اللاكتوز وغياب الغلوكوز، بينما يتوقف المشغل في الحالات الثلاث التالية؛ حال وجود اللاكتوز والغلوكوز معاً، حال وجود الغلوكوز وغياب اللاكتوز، حال غياب كل من الغلوكوز واللاكتوز (الشكل 7-9). وقد بينت نتائج الدراسات أن مستوى انتساخ الجينات البنيوية لمشغل اللاكتوز في غياب cAMP يبلغ 2% فقط من مستوياتها لدى غياب الغلوكوز ووجود cAMP.

The operon: induction

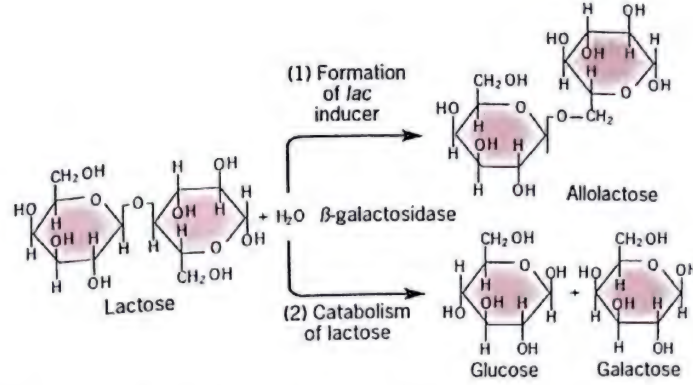


The operon: repression



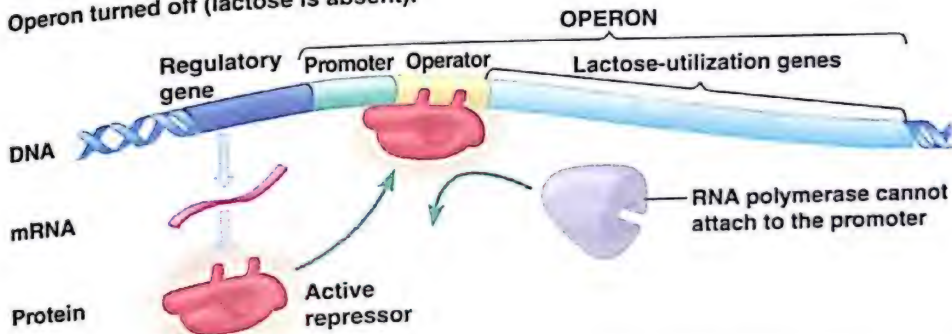
(الشكل 7-5). تحريض أو تثبيط جملة المشغل. (يسار) تحريض المشغل: في غياب المحرض يرتبط الكاظم بموقع التشغيل Operator، ويمنع ارتباط بوليميراز الرنا بمحضض الجينات البنيوية ويثبط انتساخها، ولدى إضافة المحرض يرتبط بالكاظم مما يمنع معقد المحرض-الكاظم من الارتباط بموقع التشغيل ويسمح لبوليميراز الرنا بالارتباط بمحضض الجينات البنيوية

ويُشرع أنتساخها. (يمين) تثبيط المشغل: في غياب تميم الكاظم لا يرتبط الكاظم بموقع التشغيل ويسمح لبوليميراز الرنا بالارتباط بمحضّ جينات البنيوية ويُشرع أنتساخها، وبوجود تميم الكاظم يرتبط معقد الكاظم-تميم الكاظم بموقع التشغيل مما يمنع ارتباط بوليميراز الرنا بمحضّ جينات البنيوية ويثبط أنتساخها.

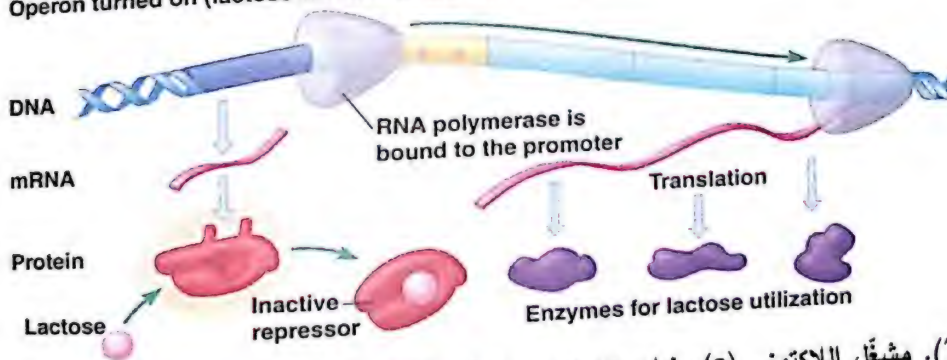


(الشكل 7-6). فعالية إنزيم البيتا غالاكتوزيداز الشاطرة للاكتوز وأيضاً المشكّلة لجزء الألولاكٹوز

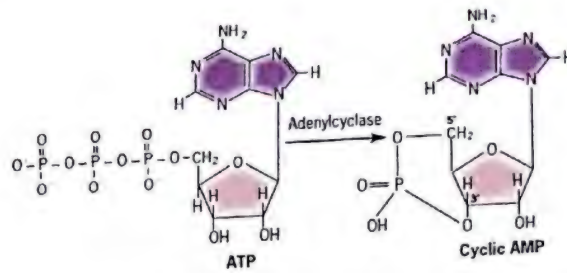
a Operon turned off (lactose is absent):



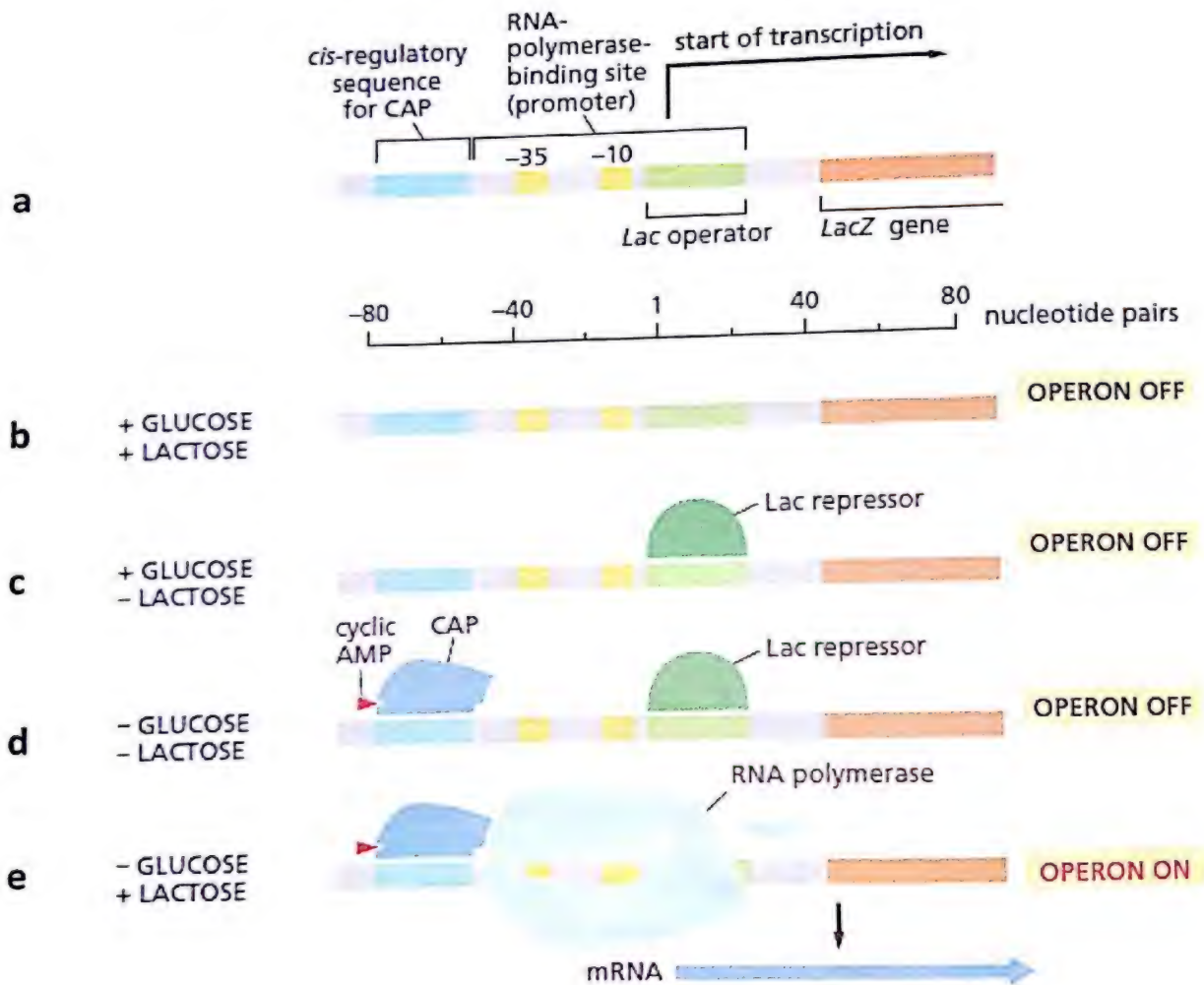
b Operon turned on (lactose inactivates the repressor):



(الشكل 7-7). مشغل اللاكتوز. (a) بغياب اللاكتوز، يتمكّن الكاظم من الارتباط بموقع التشغيل ويمنع ارتباط بوليميراز الرنا بمحضّ جينات الإنزيمات الثلاث الضرورية لاستقلاب اللاكتوز في المشغل. (b) بوجود اللاكتوز، يرتبط مشغله (الألولاكٹوز) مع الكاظم ويمنعه من الارتباط بموقع التشغيل ومن ثم يفسح المجال لأنزيم بوليميراز الرنا للارتباط بالمحضّ الملاصق لموقع التشغيل وإتمام أنتساخ الإنزيمات الثلاثة.



(الشكل 7-8). اصطناع الـ AMP المحلق من جزيء ATP بتوسط إنزيم الأدينيلات سيكلاز.

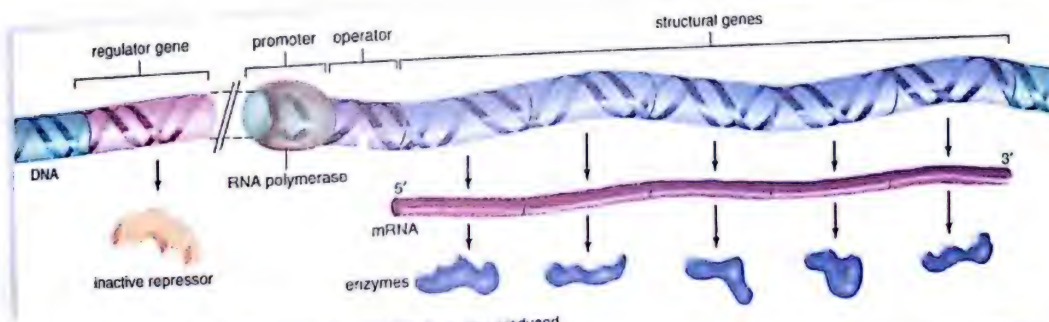


(الشكل 7-9). تنظيم انتساخ مشغل اللاكتوز بوجود أو غياب اللاكتوز والغلوكوز. (a) مكونات قطعة الدنا السابقة صُغداً Upstream للجينات البنيوية لمشغل اللاكتوز توضح موقع التتاليات المسؤولة عن ارتباط بروتين CAP وموقعي المحضض وموقع التشغيل. (b) بوجود كل من الغلوكوز واللاكتوز لا يتفعل الانتساخ بسبب عدم ارتباط CAP بموقعه وضعف أو غياب ارتباط بوليميراز الرنا. (c) بوجود الغلوكوز وغياب اللاكتوز لا يتفعل الانتساخ بسبب عدم ارتباط CAP بموقعه وأيضاً ارتباط الكاظم بموقع التشغيل Operator. (d) بغياب كل من الغلوكوز واللاكتوز لا يتفعل الانتساخ بسبب

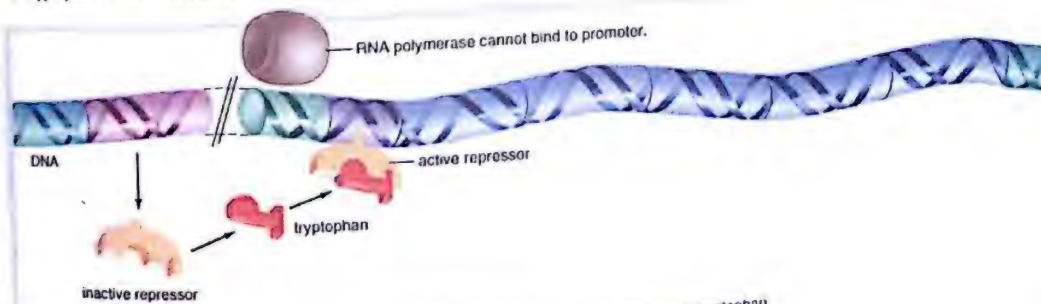
ارتباط الكاظم بموقع التشغيل على الرغم من ارتباط CAP بموقعه. (e) فقط بغياب الغلوكوز ووجود اللاكتوز يتقل الانتساخ بسبب ارتباط CAP بموقعه وعدم ارتباط الكاظم بموقع التشغيل، مما يسمح لبوليميراز الرنا بالارتباط بالمحفز والشروع بالانتساخ.

2.3.2.7. مشغل التريبتوفان Trp Operon: نموذج عن المشغلات المتواسطة لسبل البناء Anabolic Pathways

يضم مشغل التريبتوفان في *E. coli* خمس جينات بنيوية (*trp-A*) إلى (*trp-E*) ترمز بروتينات تسهم في اصطناع الحمض الأميني التريبتوفان، ويتحكم في التعبير عنها مشغل ملاصق للمعزاز كما هي الحال في مشغل اللاكتوز. إلا أن الاختلاف الجوهرى بين هذين المشغلين يكمن في أن ارتباط الكاظم بموقع التشغيل في حال مشغل التريبتوفان يحصل بوجود التريبتوفان، الذي يمثل هنا تميماً كاظماً *Co-repressor* ويرتبط بالكاظم مغيراً هيئته بحيث تناسب الارتباط بموقع التشغيل (الشكل 7-10). وهكذا، وعلى النقيض من مشغل اللاكتوز، فإن وجود التريبتوفان يثبط انتساخ الجينات التي تسهم في اصطناعه، بحيث لا يكون عمل الجينات البنيوية ضرورياً بوجود التريبتوفان كمصدر غذائي للخلية، بينما يستلزم وجود اللاكتوز اصطناع الأنزيمات اللازمة لاستقلابه في حالة مشغل اللاكتوز. ويمكن النظر إلى الآلية السابقة لعمل مشغل التريبتوفان بوصفه قاطعاً *Switch* يعمل وفق منظومة مثنوية *Binary System* تستجيب لوجود التريبتوفان (الحالة 1) أو غيابه (الحالة 0).



a. Tryptophan absent. Enzymes needed to synthesize tryptophan are produced.



b. Tryptophan present. Presence of tryptophan prevents production of enzymes used to synthesize tryptophan

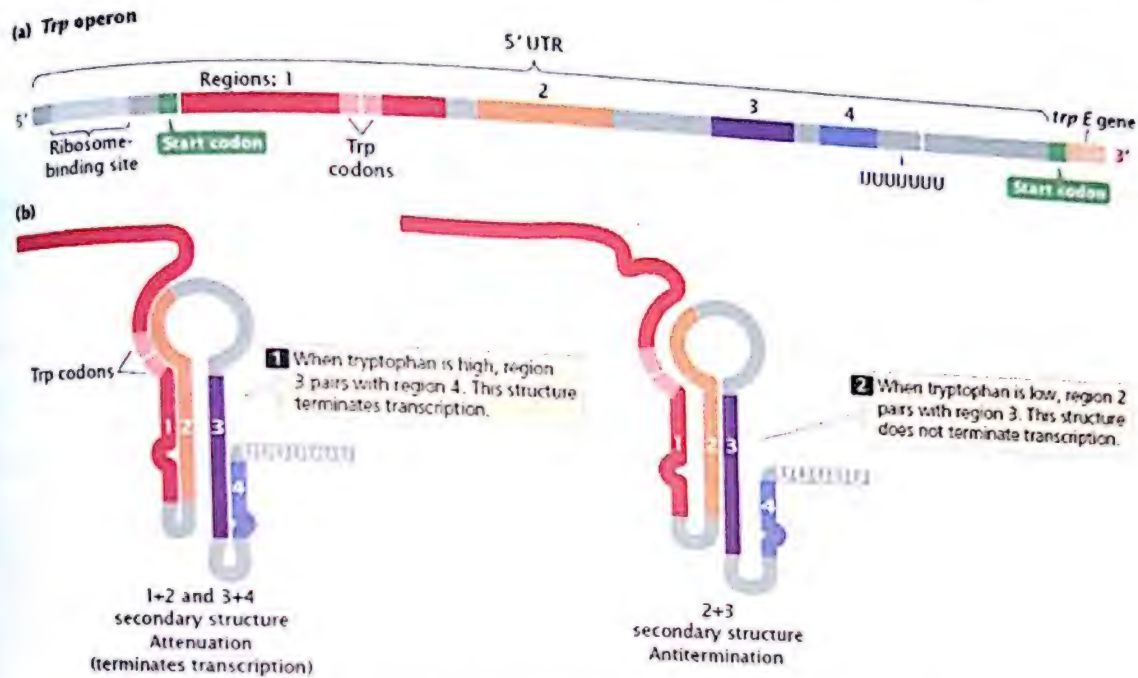
(الشكل 7-10). مشغل التريتوفان. (a) في غياب التريتوفان لا يرتبط الكاظم بموقع التشغيل ويتم انتساخ الجينات الخمس الضرورية لاصطناع التريتوفان. (b) يرتبط الكاظم بوجود التريتوفان (تميم الكاظم) بموقع التشغيل ويثبط انتساخ الجينات الخمس.

إضافة لذلك، فإنّ للتريتوفان آلية تحكّم أخرى في انتساخ الجينات الخمس تسمى بالتوهين Attenuation، تتم على مستوى الرنا المرسال وخاصةً على الجزء 5' غير المترجم من الرنا المرسال 5'UTR وترتبط كمياً بتراكيز التريتوفان في الخلية وليس فقط بوجوده أو غيابه. ولهذه الآلية عناصر أخرى إضافة إلى ما ذكر آنفاً تتعلق بالمنطقة السابقة لموقع بدء الانتساخ والمؤلفة من أربع مناطق قيادية Leader Regions تبعد 162 نوكلويدات نزلًا Downstream عن موقع بدء الانتساخ، وتحتوي المنطقة 1 على رامزين للتريتوفان (الشكل 7-11). وهنا لا بد من التذكير أن كلاً من عمليتي انتساخ الرنا المرسال وترجمته تتّمان في آن واحد في بدائيات النوى، بحيث تبدأ الريباسات بترجمة النهاية 5' للرنا المرسال بصورة متزامنة مع انتساخه (أنظر الفصل السادس). وهكذا، تؤدي زيادة اصطناع التريتوفان إلى توهين راجع لمشغل التريتوفان ومنع اصطناع المزيد من هذا الحمض الأميني. وتُعدّ الآلية السابقة مثلاً على توهين الانتساخ المتواسط بالترجمة Translation-Mediated Transcription Attenuation، حيث يؤثر معدل الترجمة على بنية الرنا التي تؤثر على معدل الانتساخ. يسير الريبوزوم ببطء خلف أنزيم بوليميراز الرنا، ويمكن للمتواليات القيادية في الرنا المرسال أن تتخذ هيكليتين حسب تراكيز التريتوفان. فعند وجود تراكيز مرتفعة من التريتوفان واثّر ارتباط الرنا الناقل الذي يحمله برامزي التريتوفان في الموقع 1، ترتبط المنطقتان 3 و4 ببعضهما البعض بحيث يسقط أنزيم البوليميراز عند نهاية هذه البنية ويتوقف الانتساخ. أما بوجود تراكيز منخفضة من التريتوفان، فيتوقف الريبوزوم عند المنطقة 1 الحاوية على رامزين للتريتوفان بسبب عدم توافر الحمض الأميني مما يسهم في ارتباط المنطقتين 2 و3 ببعضهما البعض، وعندها يستمر انتساخ الرنا متبوعاً بترجمته دون توقف إلى حين عودة ارتفاع تراكيز التريتوفان مرة أخرى (الشكل 7-11). والمثير للاهتمام هنا أن توافر التريتوفان يزيد من سرعة الترجمة مما ينعكس سلباً على الانتساخ، بينما تبطئ التراكيز المنخفضة من التريتوفان من سرعة الترجمة مما يحفز انتساخ الجينات المصطنعة للتريتوفان.

4.2.7. تنظيم التعبير الجيني على مستوى الترجمة Translational Control of Gene Expression

على الرغم أن تنظيم التعبير الجيني في بدائيات النوى يتم على مستوى الانتساخ، يحدث التحكم النهائي على مستوى الترجمة. وفي بدائيات النوى، غالباً ما تكون جزيئات الرنا المرسال متعددة الجينات، حاملةً للتاليات

المرمزة للعديد من الجينات، كما رأينا سابقاً في مشغل اللاكتوز. مع ذلك، لا يتم اصطناع الإنزيمات الثلاثة لمشغل اللاكتوز بشكل متساوٍ تماماً، فالـ *E. coli* التي تنمو في وسط يحتوي على اللاكتوز كمصدر كربوني وحيد تحتوي على 3000 جزيء من إنزيم الغالاكتوزيداز و 1500 جزيء من إنزيم البيريماز و 600 جزيء فقط من الغالاكتوزيداز ترانس أسيلاز. ومن المنطقي أن يعود السبب في هذه الفروق في تراكيز الإنزيمات فقط من الغالاكتوزيداز ترانس أسيلاز. وليس بالانتساخ بحد ذاته، **Post-Transcriptional Regulation**، إلى تنظيم لاحق للانتساخ.



(الشكل 7-11). توهين الانتساخ بالتريبتوفان. (a) مشغل التريبتوفان في جزيء الدنا، وتبدو المناطق القيادية الأربع ورمزي التريبتوفان في المنطقة الأولى. (b) يكون الرنا المرسال على هينتين اثنتين؛ ترتبط في الأولى (يسار) المنطقتان 3 و 4 بحيث يتوقف الانتساخ بوجود تراكيز عالية من التريبتوفان، بينما ترتبط في الثانية (يمين) المنطقتان 2 و 3 بحيث يستمر الانتساخ بوجود تراكيز قليلة من التريبتوفان.

ويمكن أن تفسر آليات ثلاث التنظيم اللاحق للانتساخ:

1. يمكن أن تتباين فعاليات الترجمة عند رموز البدء ATG لجينات مختلفة.
2. تشيع الاختلافات في فعالية حركة الريباسات على الرنا المرسال في المناطق ما بين الجينات Intergenic. وهكذا، يمكن أن تنتج معدلات منخفضة للترجمة من ملاقط الشعر أو غيرها من أشكال البنى الثانوية في جزيء الرنا المرسال، التي تعيق هجرة الريباسات على طول جزيء الرنا.
3. يمكن أن تحصل معدلات مختلفة لتحطّم مناطق معينة من جزيئات الرنا المرسال.

5.2.7. آليات التنظيم ما بعد الترجمة Post-translational Regulatory Mechanisms

غالباً ما يحصل تحكم دقيق وسريع على مستوى الفعالية الإنزيمية. يؤدي وجود مقادير كافية من المنتج النهائي لأحد سبل الاصطناع الحيوي إلى تثبيط الإنزيم الأول الذي يحفز أحد تفاعلات السبيل نفسه. تدعى هذه الظاهرة بالتثبيط عبر التلقيم الراجع Feedback Inhibition أو التثبيط عبر المنتج النهائي End-Product Inhibition (الشكل 7-12).

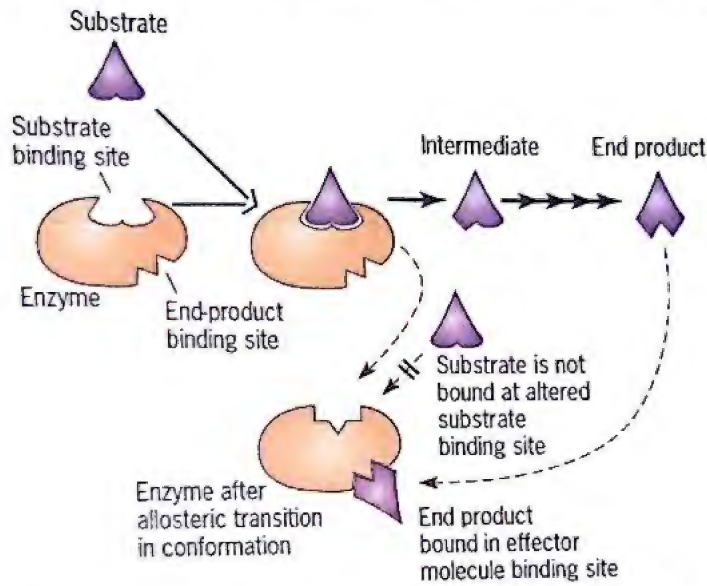
يؤدي التثبيط عبر التلقيم الراجع إلى إيقاف اصطناع المنتج النهائي بحيث يكاد يكون لحظياً بعد إضافة المثبطات إلى الوسط. ونعود هنا إلى مثال اصطناع التريبتوفان في *E. coli*. يرتبط التريبتوفان بالإنزيم الأول في سبيل الاصطناع وهو الإنزيم المصنّع للأنترانيلات Anthranilate Synthase ويكبت فعاليته بشكل كامل ويوقف اصطناع التريبتوفان بشكل فوري.

تحتوي الإنزيمات الحساسة للتثبيط عبر التلقيم الراجع موقعاً لارتباط المنتج النهائي يدعى بالموقع التفارغي Allosteric Site، إضافةً إلى موقع الارتباط بركائزها Substrates النوعية. ولدى ارتباط الإنزيم بالمنتج النهائي، تحدث تغيرات في البنية ثلاثية الأبعاد وهيئة الإنزيم مما يخفض إلفة الإنزيم للارتباط بركائزته. ويشار إلى الإنزيمات التي تخضع لمثل هذا التغير في الهيئة Conformational Change بالبروتينات التفارغية Allosteric Proteins، ويخضع الكثير من، وربما معظم، الإنزيمات لمثل هذه التغيرات. يمكن أيضاً أن تكون التغيرات التفارغية مسؤولة عن تنشيط الإنزيمات بعد ارتباط بعض الجزيئات في الموقع التفارغي. وتؤدي بعض الإنزيمات طيفاً واسعاً للجزيئات التي يمكن أن ترتبط بها وتعمل على تنشيطها أو تثبيطها نتيجة إحداث التغيير في هيئة هذه الإنزيمات. نذكر على سبيل المثال الإنزيم المصنّع للغلوتامين Glutamine Synthase، الذي يحفز الخطوة الأخيرة في الاصطناع الحيوي للحمض الأميني الغلوتامين. يتكون هذا الإنزيم من عدد من السلاسل عديدة الببتيد في بدائيات النوى، ويؤدي استجابةً، سواءً أدت إلى تنشيطه أم إلى تثبيطه، لـ 16 مستقبلاً مختلفاً عبر التغيرات التفارغية.

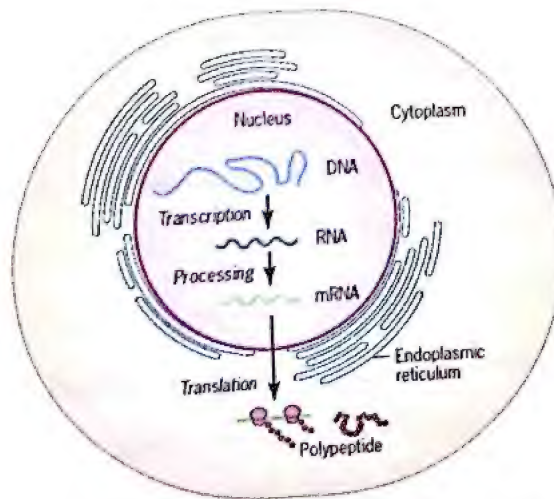
3.7. تنظيم التعبير الجيني في حقيقيات النوى Regulation of Gene Expression in Eukaryotes

تحتوي الكائنات عديدات الخلايا على الكثير من الأنماط الخلوية المرتبة ضمن أنسجة وأعضاء. يمكن أن يتم التعبير لجين معينة في خلايا الدم لكن لا يعبر عنها في الخلايا العصبية، بينما قد يكون مرتسم Profile التعبير الجيني لجين أخرى معكوساً. ويعكس ضبط التعبير الجيني المؤدي لمثل هذه الاختلافات التعقيد التشريحي والفيزيولوجي لحقيقيات النوى عديدات الخلايا.

وكما لدى بدائيات النوى، يتضمن التعبير عن جينات حقيقيات النوى انتساخ تلك الجينات واصطناع الرنا المرسال والترجمة اللاحقة له إلى بروتين. لكن، قبل حصول الترجمة، تخضع معظم جزيئات الرنا إلى عدة عمليات تمت الإشارة لها سابقاً (انظر الفصل الخامس). إن تقسيم خلايا حقيقيات النوى إلى حجرات عديدة (العضيات الخلوية) يفصل فيزيائياً أحداث التعبير الجيني. فيحدث الانتساخ والتعديلات اللاحقة له في النواة بينما تحدث الترجمة في هيولى الخلية بعد وصول الرنا المرسال الناضج إليها قادماً من النواة. يؤدي الفصل بين الانتساخ والترجمة إلى حصول ضبط التعبير الجيني في أماكن مختلفة (الشكل 7-13).



(الشكل 7-12). التثبيط التفارغي **Allosteric Inactivation** لفعالية الإنزيم بواسطة المنتج النهائي. يحتوي الإنزيم موقعاً تفارغياً في غير موقع ارتباط الإنزيم بركازته **Substrate**، وعندما يرتبط المنتج النهائي للتفاعل الإنزيمي بالموقع التفارغي يحدث تغييراً في هيئة الإنزيم، ولا يتمكن الإنزيم عندها من الارتباط بركازته ويتوقف التفاعل الذي يتواسطه.



(الشكل 7-13). مواقع تنظيم التعبير الجيني في حقيقيات النوى.

1.3.7. ضبط التعبير الجيني على مستوىي الدنا والرنا

Control of Gene Expression On DNA & RNA Levels

1.1.3.7 . الضبط على مستوى انتساخ الدنا Controlled Transcription of DNA

قبل أن تملك الإشارات البيئية أي تأثير على مستوى الانتساخ لا بد لها من العبور من سطح الخلية عبر الهيولى والغلاف النووي إلى الصبغيات. وبذلك، تحتاج الخلايا حقيقيات النوى إلى منظومات إشارة داخلية معقدة لانتساخ الدنا. ويكمن تعقيد آخر في كون الكثير من حقيقيات النوى عديدات خلايا. وهكذا، يمكن للجزيئات البيئية أن تمر عبر طبقات خلوية متعددة حتى تملك تأثيراً على انتساخ الجينات في نسيج محدد. وكما هو الحال في بدائيات النوى، تتواسط ضبط الانتساخ في حقيقيات النوى تأثيرات بين البروتينات وشرائط الدنا، بحيث ترتبط بروتينات منظمة إيجاباً وسلباً إلى مناطق محددة في الدنا لتحريض أو تثبيط الانتساخ. وتدعى هذه البروتينات بعوامل الانتساخ Transcription Factors، والتي سنتحدث عنها بالتفصيل لاحقاً في هذا الفصل.

2.1.3.7 . التضمير البديل للرنا Alternative Splicing of RNA

يملك الكثير من جينات حقيقيات النوى إنترونات Introns، وهي تتاليات غير مرمزة للبروتين يجب أن تزال من جزيء الرنا المرسال البدئي قبل أن ينضج ويخرج إلى هيولى الخلية بعملية التضمير Splicing (انظر الفصل الخامس). تتسبب الجينات التي تملك عدة إنترونات بمشكلة لآليات التضمير. فيمكن لهذه الإنترونات أن تزال بشكل فردي أو كمجموعة، اعتماداً على كيفية تأثير آليات التضمير بالرنا المرسال البدئي. فإذا أزيل إنترونان متعاقبان معاً، عندها تتم إزالة الإكسون الواقع بينهما. وهكذا، يمكن لآليات التضمير أن تعدّل التتالي المشفر للرنا عبر حذف بعض الإكسونات. تدعى هذه الظاهرة الخاصة بتضمير الرنا بأشكال مختلفة بالتضمير البديل Alternative Splicing، ويعتقد أنها تعظم الاستفادة من تتاليات دنا الجينات بحيث يمكن لجين واحدة أن ترمز عدداً من البروتينات بدلاً من بروتين واحد. وكمثال على ذلك، نذكر بروتين التروبونين Troponin T المعبر عنه في العضلات المخططة في الفقاريات؛ يتراوح حجم هذا البروتين بين 150 و250 حمضاً أمينياً. وفي الجرذ، يبلغ حجم جين التروبونين T 16000 شفعاً من النوكليوتيدات وتحتوي 18 إكسوناً (الشكل 7-14). يتم تضمير نواسخ Transcripts، أي جزيئات الرنا المنتسخة من هذه الجين، بطرق مختلفة لتعطي مصفوفة من جزيئات الرنا المرسال المختلفة، التي تعطي لدى ترجمتها الكثير من أنواع التروبونين T في الجرذ تشترك جميعها بنفس الأحماض الأمينية الناتجة عن ترجمة الإكسونات 1-3 و9-15 والإكسون 18، بينما قد توجد أو تُحذف المنطقة المرمزة بأي من الإكسونات 4-8 وبأي شكل كان. كما

يمكن أن يوجد أو يحذف الإكسونان 16 و 17. ويُعتقد أن هذه التتويجات لبروتين التروبونين T في الجرز تقوم بوظائف مختلفة قليلاً في العضلات، مما يساهم في التبدلات في عمل الخلية العضلية.

Exons in rat troponin T gene

5' 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 3'



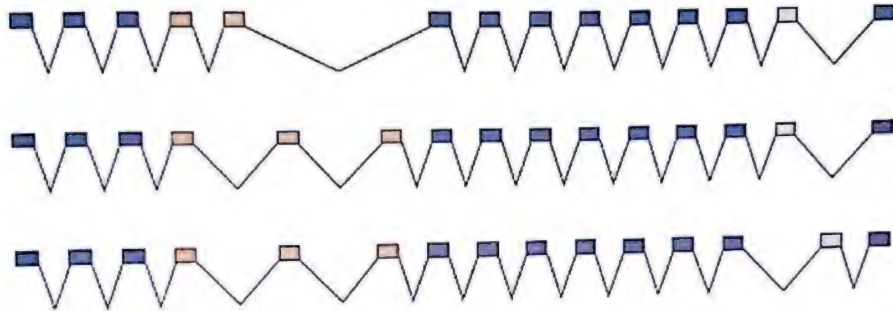
Alternate splicing of exons produces 64 different mRNAs.

■ Exons 1-3, 9-15, and 18 are present in all mRNAs.

■ Exons 4-8 are present in various combinations in mRNAs.

■ Exons 16 or 17, but not both, are present in all mRNAs.

Examples of mRNAs



(الشكل 7-14). التفسير البديل للرنا المرسال لبروتين التروبونين T في الجرز. يبين الشكل ثلاثة أنواع ممكنة للرنا المرسال الناضج الذي ينتج عن انتساخ جين التروبونين، إذ تنتج هذه الأنواع من التفسير البديل عن طريق الإبقاء على بعض الإكسونات وحذف أخرى.

3.1.3.7. الضبط الهولي لثباتية الرنا المرسال

حالما ينتقل الرنا المرسال إلى الهولي تتم ترجمته عبر ارتباطه بعدة ريباسات التي ترتبط به وتقوم بترجمته بشكل متعاقب، وتستمر هذه العملية حتى تدرك الرنا المرسال (انظر الفصل 6). وهكذا، يمثل تدرك الرنا المرسال أحد نقاط التحكم بالتعبير الجيني. فيمكن لجزيئات الرنا المرسال طويلة العمر أن تتحمل عدة دورات متعاقبة من اصطناع البروتين بينما لا تتمكن قصيرة العمر من ذلك. وعندما يكون الرنا المرسال قصير العمر عندئذٍ يجب تعويضه باصطناع جزيئات رنا مرسال جديدة لتخرج مجدداً إلى الهولي لتجنب توقف اصطناع البروتين الذي يرمّزه. وقد يكون توقف اصطناع البروتين هدفاً في نفسه حين يصبح البروتين ضاراً للخلية أو أن البروتين ضروري فقط في إحدى مراحل النمو فقط. وفي هذين الحالتين يكون التدرك السريع للرنا المرسال طريقة معقولة لمنع الاصطناع غير المرغوب به لأحد البروتينات. يمكن أن يتأثر طول عمر الرنا المرسال بعدد من العوامل من أهمها:

- طول الذيل عديدة الأدينين Poly (A) Tails التي تعمل على زيادة ثباتية الرنا المرسال.
- التتاليات في النهاية 3' غير المترجمة 3'UTR التي تسبق ذيل عديد الأدينين، ويبدو أنها تؤثر أيضاً في ثباتية الرنا المرسال. في الواقع، تملك جزيئات الرنا قصيرة العمر التتالي AUUUA بعدد من التكرارات عند منطقة 3'UTR في هذه الجزيئات. وحين نقل هذا التتالي في بعض التجارب إلى جزيئات رنا مرسال طويلة العمر تصبح هذه الجزيئات قصيرة العمر.
- يمكن لبعض العوامل الكيميائية، كهرمون الإستروجين، أن تؤثر في ثباتية الرنا المرسال.
- وجود جزيئات رنا صغيرة الوزن الجزيئي تدعى جزيئات الرنا المُسكِّنة Silencing RNAs أو جزيئات أخرى تدعى جزيئات الرنا الأصغري MicroRNAs، التي تقوم بتعطيم الرنا المرسال أو بتثبيط ترجمته. وسنتحدث عن هذه الجزيئات لاحقاً في هذا الفصل.

2.3.7. تحريض الفعالية الانتساخية بالعوامل البيئية والبيولوجية Induction of Transcriptional Activity By Environmental & Biological Factors

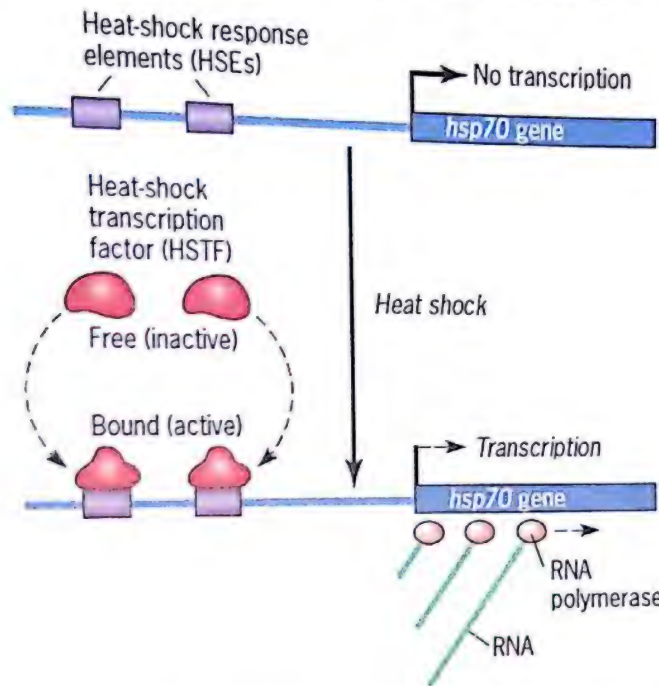
سار جمهرة من الباحثين على خطى العالمين جاكوب ومونو، اللذين كشفوا كما رأينا أن اللاكتوز يعمل كمحرّض للتعبير الجيني في مشغل اللاكتوز، لتحديد المحرضات النوعية للتعبير الجيني في حقيقيات النوى. وعلى الرغم من أن بعض تلك الخطوات تكلفت بالنجاح، تبدو درجة تأثر جينات حقيقيات النوى بالعوامل البيئية والتغذوية أقل من تلك التي تبديها بدائيات النوى. وسنقدم فيما يلي مثالين عن التعبير الجيني المحرّض في حقيقيات النوى.

1.2.3.7 . الحرارة وجينات الصدمة الحرارية

عندما تتعرض الكائنات الحية لدرجة حرارة مرتفعة، تستجيب باصطناع مجموعة من البروتينات تساعد في زيادة ثباتية بيئاتها الداخلية. تدعى هذه البروتينات ببروتينات الصدمة الحرارية Heat-Shock Proteins أو HSPs وتوجد في كل من بدائيات وحقيقيات النوى، وهي من بين البروتينات الأكثر انحفاظاً من إذ التتاليات النوكليوتيدية لجيناتها بين الكائنات الحية. على سبيل المثال، يتراوح التطابق في تسلسل الأحماض الأمينية لهذه البروتينات بين جراثيم E. coli وذبابة الخل Drosophila بين 40 إلى 50%، وهو أمر مثير للاهتمام مع إدراك المسافة التطورية الكبيرة بين كلا النوعين من الكائنات الحية.

يتم ضبط التعبير الجيني عن بروتينات الصدمة الحرارية على مستوى الانتساخ، إذ تحرّض الحرارة بشكل نوعي انتساخ الجينات المرمّزة لهذه البروتينات. أحد الأمثلة هو بروتين الصدمة الحرارية لدى ذبابة الخل له

وزن جزيئي 70 كيلودالتون HSP70. فقط حين ترتفع الحرارة إلى 33°م، كما يحدث في أيام الصيف الحارة، يتم انتساخ جين هذا البروتين. يحدث ذلك بسبب فسفرة أحد عوامل الانتساخ يدعى عامل انتساخ الصدمة الحرارية Heat-Shock Transcription Factor أو HSTF، الذي يوجد في نوى خلايا ذبابة الخل، ويتحول بذلك إلى شكله الفعال القادر على الارتباط بتتالي نوكلوتيدي يدعى عنصر استجابة الصدمة الحرارية Heat-Shock Response Element أو HSE يقع صُغداً بالنسبة لجين HSP70 مما يجعل إنزيم بوليميراز الرنا أكثر قدرةً على الارتباط بمحضض هذه الجين ويشرع أنتساخها (الشكل 7-15).



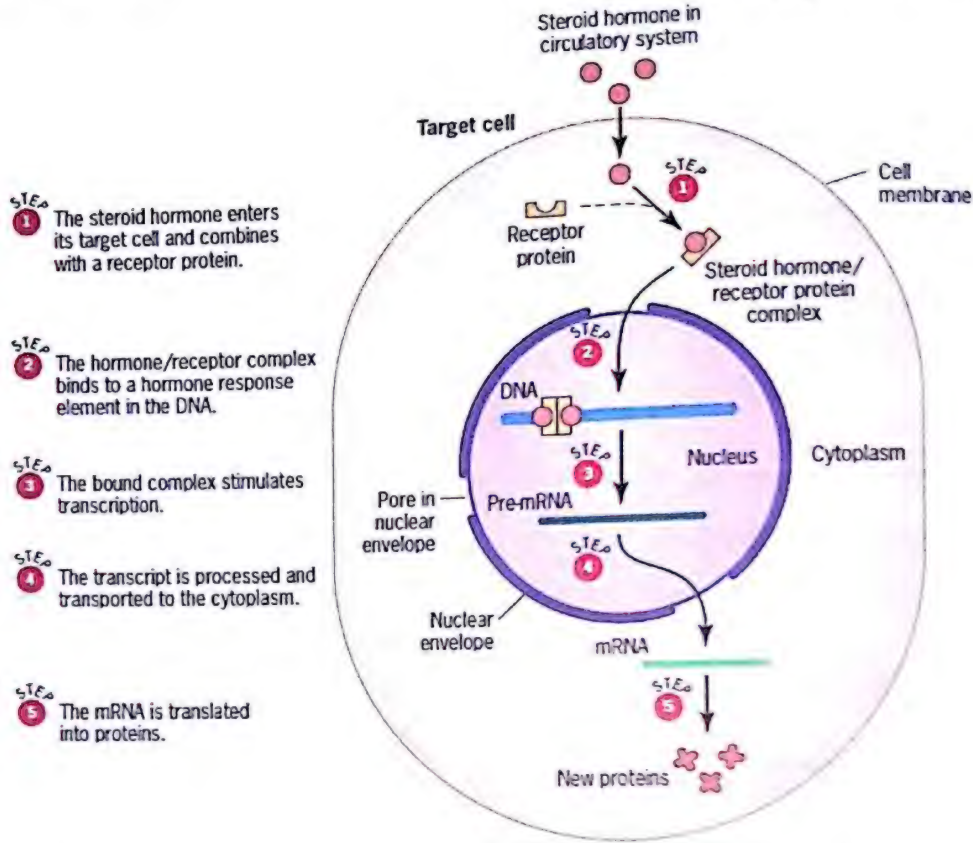
(الشكل 7-15). انتساخ جين HSP70 بوجود عامل الانتساخ HSTF الذي تتغير هيئته نتيجة ارتفاع درجة الحرارة إلى شكل يستطيع الارتباط بالدنا ويفعل انتساخ الرنا المرسل لجين HSP70.

2.2.3.7. جزيئات الإشارة: الجينات المستجيبة للهرمونات

في حقيقيات النوى عديدات الخلايا، يمكن لخلية أن تمرر إشارة لخلية أخرى عبر ما نطلق عليه الهرمونات، وتجول في الجسم وترتبط بخلاياها المستهدفة وتولد سلسلة من الحوادث التي تنظم من خلالها التعبير الجيني لجينات نوعية. يوجد لدى الحيوانات عادة صنفان من الهرمونات.

الصنف الأول، وهو الهرمونات الستيرويدية Steroid Hormones، وهي جزيئات صغيرة منحلّة بالدم ومشتقة من الكوليسترول. وبسبب طبيعتها الدسمة، يمكنها بسهولة أن تمر عبر أغشية الخلية، ومثالها الإستروجين والبروجسترون والتستسترون والسكريات القشرانية Glucocorticoids. وحالما يدخل الهرمون الستيرويدي إلى الخلية، تتأثر معه بروتينات هيولية أو نووية تدعى بمستقبل الهرمون Hormone

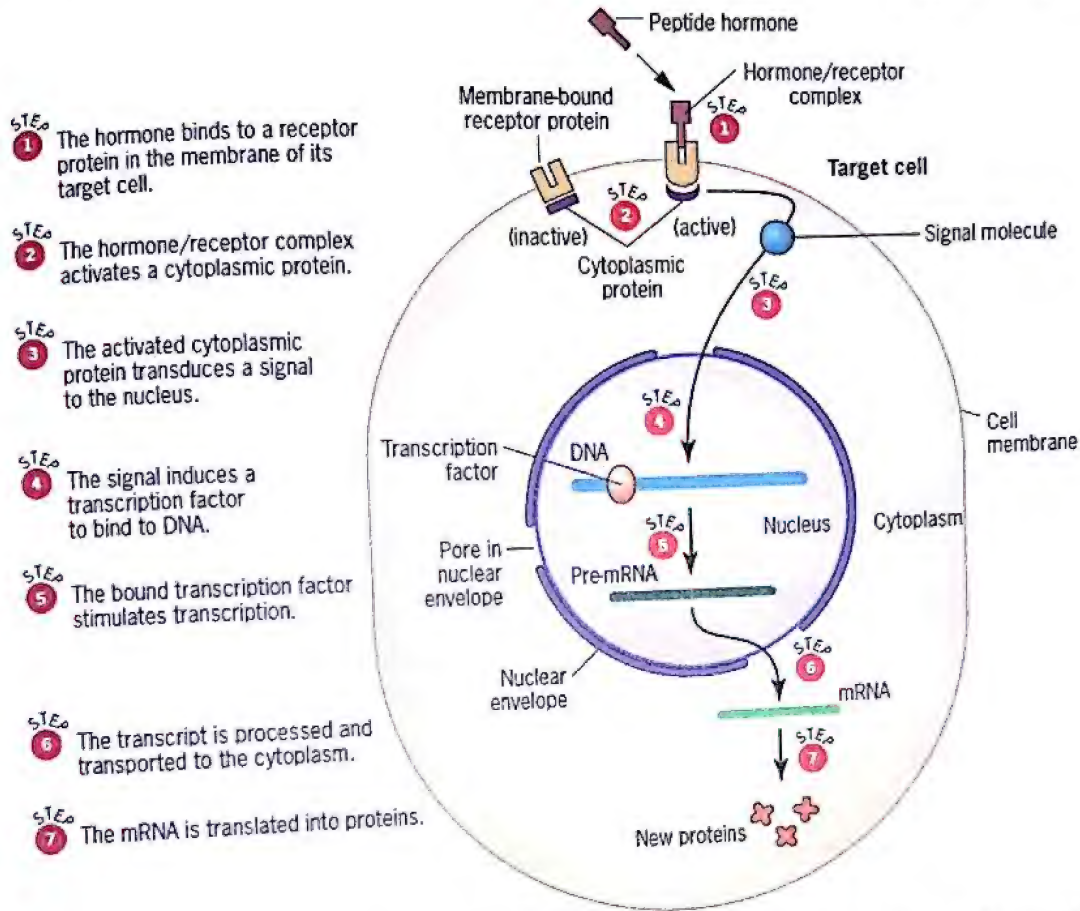
Receptor ليتشكل معقد من الهرمون ومستقبله ويتأثر لاحقاً مع الدنا، إذ يكون هذا المعقد بمثابة عامل انتساخ ينظم التعبير الجيني (الشكل 7-16).



(الشكل 7-16). دور الهرمونات الستيرويدية في تحريض انتساخ جيناتها الهدف. (1) بعد دخول الهرمون إلى هيولى الخلية يرتبط بمستقبله مشكلاً معقد هرمون-مستقبل (2) يرتبط المعقد بعنصر استجابة في الدنا (3) يحرض المعقد الانتساخ (4) ينتقل الرنا المرسال المنتسخ إلى الهيولى و(5) يُترجم.

أما الصنف الثاني من الهرمونات، وهو الهرمونات الببتيدية Peptide Hormones، فهي سلاسل خطيّة من الأحماض الأمينية ترمّزها جينات خاصة، ومثالها الإنسولين والسوماتوتروبين وعامل النمو والبرولاكتين. وبسبب كون الهرمونات الببتيدية عادةً ذات وزن جزيئي كبير لا يُمكنها من عبور غشاء الخلايا، تنتقل الإشارة التي تحملها هذه الهرمونات إلى داخل الخلية بعد أن يرتبط الهرمون بمستقبله النوعي على غشاء الخلية (الشكل 7-17). ينتج عن تأثر الهرمون مع مستقبله تغيير في هيئة المستقبل من الشكل غير الفعّال إلى الشكل الفعّال Active Form، ويترافق ذلك مع تغييرات على هيئة المستقبل في جزئه داخل الخلية. وعبر شلال من تلك التغييرات، تنتقل الإشارة الهرمونية عبر هيولى الخلية إلى النواة، حيث تبدي تأثيراً في

التعبير الجيني لجينات نوعية. وتدعى هذه العملية من نقل إشارة الهرمونات الببتيدية إلى النواة بتنبيغ الإشارة
Signal Transduction



(الشكل 7-17) دور الهرمونات الببتيدية في تحريض انتساخ جيناتها الهدف. (1) يرتبط الهرمون إلى مستقبل غشائي في الخلية الهدف (2) يفصل معقد هرمون-مستقبل بروتيناً هيوياً (3) ينقل البروتين المحرض الإشارة إلى النواة (4) تحرض الإشارة ارتباط عامل انتساخ بالدنا، والذي (5) يحرض الانتساخ (6) ينقل الرنا المرسال إلى الهيولى و (7) يترجم.

تتوسط التعبير الجيني المحرض بالهرمونات تتاليات نوعية في شريط الدنا، وتدعى بعناصر الاستجابة الهرمونية Hormone Response Elements أو (HRES)، وهي شبيهة بالعناصر التي ذكرت آنفاً عند الحديث عن الاستجابة الخلوية للحرارة. تقع HRES قرب الجينات التي تنظم تعبيرها الجيني ووظيفتها أن تربط بروتينات نوعية تعمل على تنظيم الانتساخ. في حال الهرمونات الستيروئيدية كالإستروجين، ترتبط HRES بمعقد الهرمون-مستقبل وتحفز الانتساخ. وتعتمد شدة التحفيز تلك على عدد عناصر HRES الموجودة قرب الجين الهدف. أي، لدى وجود عنصر HRES تكون الاستجابة أعلى من حال وجود عنصر واحد. وفي حال الهرمونات الببتيدية، يبقى المستقبل عادةً عند غشاء الخلية، وتنتقل الإشارة

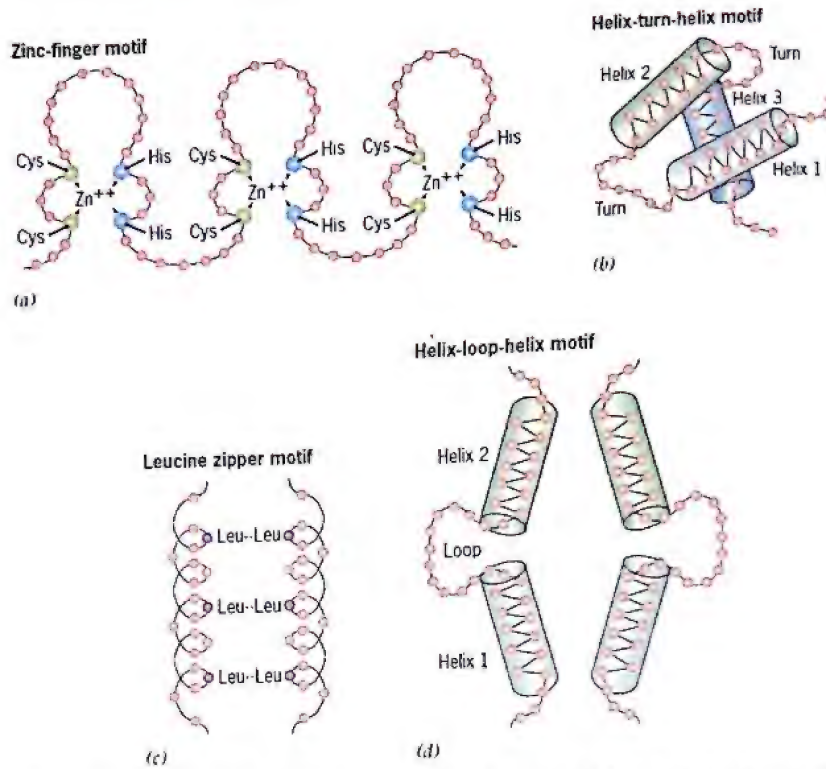
الهرمونية إلى النواة عبر بروتينات أخرى، بعضها يرتبط بتتاليات دنا قرب الجينات التي يتم تنظيم انتساخها بالهرمون. وتعمل هذه البروتينات بمثابة عوامل انتساخ لتنظيم التعبير الجيني. يمكن للفعالية الانتساخية لكثير من الجينات أن تتحرّض ببروتينات أخرى غير هرمونية، أي لا يتم إنتاجها من غدة أو عضو معيّن. وتضم هذه البروتينات جزيئات جائلة مُفرزة مثل عامل النمو العصبي Nerve Growth Factor، وعامل النمو البشري Epidermal Growth Factor، وعامل النمو المشتق الصفائحي Platelet-Derived Growth Factor. وتشبه آلية تفعيل هذه البروتينات غير الهرمونية للتعبير الجيني لجيناتها الهدف داخل الخلية آلية تفعيل الهرمونات الببتيدية إلى حدّ كبير.

3.3.7. الضبط الجزيئي للانتساخ في حقيقيات النوى Molecular Control of Transcription

بما أن انتساخ الجينات هو المستوى الأساسي لتنظيم التعبير الجيني لدى حقيقيات النوى، فقد جذب التعرف على آليات ضبطه عدداً هائلاً من الباحثين الذين استفادوا من التطور التقني في العقود الماضية، وأدى كثير من تلك الأبحاث إلى تحديد العناصر المشاركة في ضبط التعبير الجيني سواءً على مستوى تتاليات الدنا أو البروتينات المشاركة.

1.3.3.7. البروتينات المتورطة في ضبط الانتساخ: عوامل الانتساخ

تعرّف عوامل الانتساخ أنها بروتينات تمتلك بنية ثالثة تمكّنها من الارتباط بتسلسلات نوكلوتيدية محدّدة، وخاصةً في منطقة المحضّض Promoter التي تسبق مباشرة تسلسل الجين على شريط الدنا، وتهيئ بذلك المكان لارتباط إنزيم بوليميراز الرنا RNA Polymerase المسؤول عن انتساخ تلك الجين. يمكن تمييز عوامل انتساخ عامة تحفّز التعبير الجيني لمعظم الجينات وعوامل انتساخ خاصة ترتبط بتسلسلات جينات نوعية دون غيرها لتحرّض انتساخها. يتم عادةً تحفيز مجموعة من عوامل الانتساخ الخاصة بمنبهات مماثلة للشارة الخلوية Cell Signaling، وبحيث تستجيب الخلية لذلك أنتساخ عدد من الجينات النوعية التي تخدم جميعاً الوظيفة الفيزيولوجية المتوائمة مع طبيعة تلك المنبهات. إن لمستوى ونوع عوامل الانتساخ العامة والخاصة داخل الخلية تأثيراً جلياً في التحكم بالتعبير الجيني لجيناتها، وتكتنف ذلك آليات شديدة التعقيد، ولاسيما أن اصطناع عوامل الانتساخ يحدث خارج النواة، كشأن بقية البروتينات في الخلية، مما يتطلب سبلاً خاصة تسمح بعود إدخال عوامل الانتساخ إلى النواة حيث تؤدي وظيفتها بتحفيز التعبير الجيني لجيناتها الهدف Target Genes.



(الشكل 7-18). أنواع بنى العوامل البروتينية (عوامل الانتساخ) المرتبطة بالدنا. (a) إصبع الزنك (b) حلزون-التفاف-حلزون (c) مقص اللوسين (d) حلزون-عروة-حلزون.

2.3.3.7 . تتاليات الدنا المساهمة في ضبط الانتساخ

تبدأ أحداث الانتساخ بارتباط إنزيم بوليميراز الرنا عند المحضض Promoter، الأمر الذي يتطلب عدداً من البروتينات التي تدعى بعوامل الانتساخ العامة General Transcription Factors أو GTFs التي تقوم بتنشيط تأثر إنزيم البوليميراز مع المحضض قبل أن يشرع في الانتساخ. إضافة لذلك، يتطلب انتساخ جينات حقيقيات النوى الكثير مما يدعى بعوامل الانتساخ النوعية Specific Transcription Factors أو STF. ترتبط بروتينات الـ STF بتتاليات من الدنا، هي نفسها عناصر الاستجابة الهرمونية التي ذكرناها سابقاً، سنسميها من الآن وصاعداً بالمعززات Enhancers، التي تتوضع كما رأينا بقرب الجينات.

للمعززات خصائص ثلاث تميزها من المحضضات Promoters، هي:

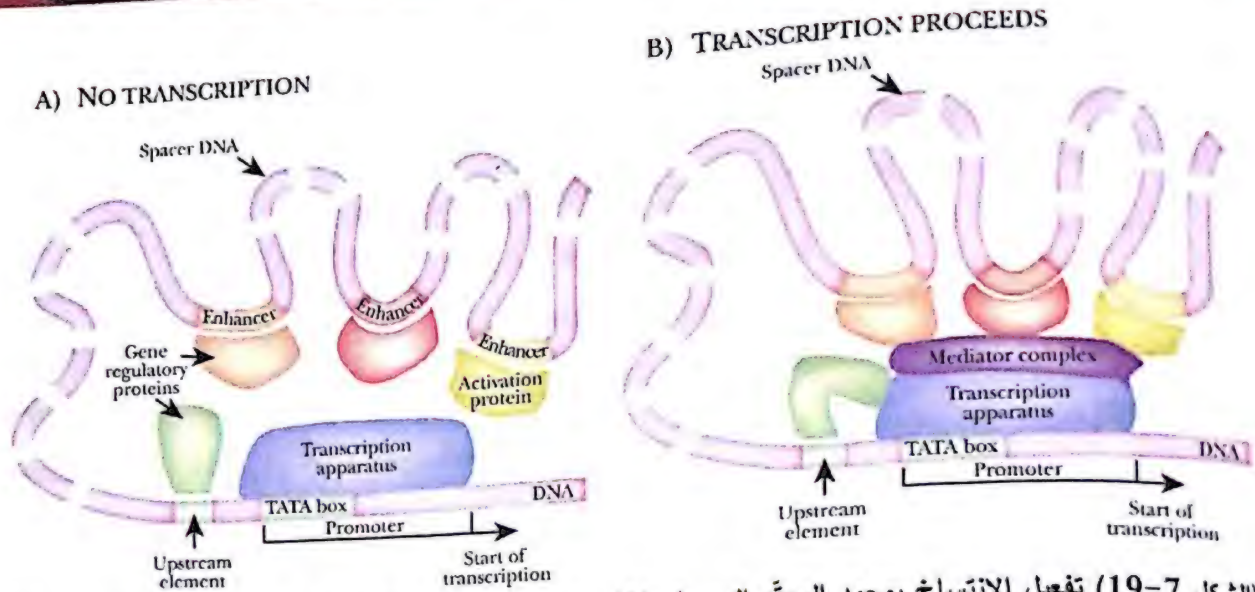
1. يمكن لمواقع المعززات أن تبعد آلاف الأشفاة النوكلوتيدية عن الجينات التي تسيطر على انتساخها، بينما يقع المحضض دائماً في موقع ملاصق للجين التي يُراد انتساخها.

2. يكون تأثير المعزاز الضابط للانتساخ مستقلاً عن اتجاه تتالي المعزاز ، أي يمكن أن يقع المعزاز في شريط الدنا الذي ينتسخ عنه جزيء الرنا المرسال، أو ما ندعوه بالطاق المرصاف Template Strand، بحيث يكون اتجاه المعزاز هونفسه اتجاه الجين، أو في شريط الدنا المقابل الذي ندعوه الطاق المشفر Coding Strand أو الطاق غير المرصاف Non-Template Strand، بحيث يكون اتجاه المعزاز معاكساً لاتجاه الجين، على عكس المحضض الذي يقع دائماً في نفس الشريط المرصاف وينفس اتجاه الجين المعبر عنها.

3. يُبدي المعزاز تأثيره مستقلاً عن موقعه بالنسبة للجين، فقد يوجد في شريط الدنا صُعداً Upstream أو نُزلاً Downstream بالنسبة لموقع الجين، بمعنى مجازي إلى يسار أو يمين الجين، بينما يقع المحضض دائماً صُعداً بالنسبة للجين (إلى يسار الجين).

إضافة لذلك، يمكن أن يتألف المعزاز من عدد كبير من الأشفاع النوكليوتيدية، قد تبلغ عدة مئات من الأشفاع، وكثيراً ما يحتوي المعزاز على تتاليات متكررة Repeated Sequences، وتكون الغالبية من المعزازات نوعية للنسج التي تحرض فيها انتساخ الجينات.

أما بالنسبة لآلية عمل هذه المعزازات، فقد بين كثير من الأبحاث أن عوامل الانتساخ النوعية STF's المرتبطة بهذه المعزازات تتأثر مع عوامل الانتساخ العامة GTF's وإنزيم بوليميراز الرنا عبر وجود ما يدعى المعقد الوسيط Mediator Complex الذي يحتوي على أكثر من 20 بروتيناً، وتكون وظيفته الأساسية ربط عوامل الانتساخ العامة والنوعية وبوليميراز الرنا بعضها مع بعض لزيادة إلفة إنزيم البوليميراز للمحضض وتثبيته قبل أن يشرع بالانتساخ. وعلى الرغم من وجود الكثير من المعزازات على مسافة بعيدة من الجين الهدف، فإن انحناء شريط الدنا DNA Bending يؤدي إلى التقارب الفيزيائي لعوامل الانتساخ النوعية المرتبطة بها مع عوامل الانتساخ العامة وبوليميراز الرنا بتواسط المعقد الوسيط (الشكل 7-19).



(الشكل 7-19) تفعيل الانتساخ بوجود المعقد الوسيط. (A) ترتبط عوامل الانتساخ العامة على تنالي المحضض (مشكلة جهاز الانتساخ Transcription Apparatus) وعوامل الانتساخ الخاصة على المعززات وتناليات تسبق المحضض صغداً Upstream Elements إلا أنه ويغيب المعقد الوسيط لا يحدث اتصال فيزيائي بين جميع البروتينات ولا يتفعل الانتساخ. (B) بوجود المعقد الوسيط، تتأثر جميع البروتينات بعضها مع بعض وتثبت جهاز الانتساخ ويوليميراز الرنا مما يفعل انتساخ الجين.

4.3.7. الضبط اللاحق للانتساخ للتعبير الجيني عبر التداخل بالرنا Post-Transcriptional Control Throught RNA Interference (RNAi)

على الرغم من أن ضبط التعبير الجيني يحدث بصورة أساسية على مستوى تفعيل الانتساخ، فقد قادت الأبحاث في العقود الماضية إلى الكشف عن الكثير من آليات ضبط التعبير الجيني على مستوى الرنا المرسال المنتسخ نفسه. تكتنف بعض هذه الآليات جزيئات رنا صغيرة غير مرمزة Non-Coding RNAs. وعبر ارتباطها بتسلسلاتها المتممة في جزيئات الرنا المرسال، تتداخل هذه الجزيئات بالتعبير الجيني. لذلك يدعى هذا التنظيم اللاحق للانتساخ بالتداخل بالرنا RNA Interference أو RNAi. وأدى اكتشاف هذه الآلية المستخدمة من قبل كثير من الكائنات حقيقيات النوى إلى إمكانية تحديد وظائف الكثير من الجينات في الكائن الحي، وذلك عبر تثبيط التعبير الجيني لهذه الجينات عن طريق هذا النوع من التداخل ودراسة تأثير ذلك في وظائف الكائن الحي.

يمكن تلخيص آلية التداخل بالرنا كآلاتي (الشكل 7-20). تتضمن هذه الآلية جزيئات رنا صغيرة تدعى بجزيئات الرنا المتداخلة القصيرة Short Interfering RNAs أو siRNAs وجزيئات الرنا الأصغري microRNAs أو miRNAs. يتم إنتاج هذه الجزيئات، التي يبلغ طولها بين 21 إلى 28 شغفاً نوكلوتيدياً،

من جزيئات رنا مضاعف الطاق أطول عبر بروتينات لها فعالية إنزيمية مدركة لجزيئات الرنا مضاعف الطاق تدعى الإندونكلياز Endonucleases. وبسبب كون هذه الإنزيمات تشطر Dice الرنا الطويل إلى قطع صغيرة، فإنها تدعى الإنزيمات الشاطرة Dicer Enzymes. ترتبط الجزيئات siRNAs و miRNAs المنتجة عبر الإنزيمات الشاطرة بشكل متمم للأسس النوكليوتيدية الموجودة في الرنا المرسال النوعي لها. وفي هيولى الخلية، تندرج جزيئات siRNAs و miRNAs ضمن جزيئات بروتينية ريبونوكليوتيدية (أي تحتوي بروتينات مرتبطة بالرنا). نتيجة لذلك، يتم فك ارتباط طاقى الجزيئات siRNAs أو miRNAs، ويتم تخريب واحد فقط من الطاقين، بينما يتمكن الطاق الوحيد المتبقى من الارتباط مع جزيء الرنا المرسال النوعي له والمتمم Complimentary لتسلسل الأسس النوكليوتيدية المحتوى في هذا الطاق. وبسبب أن الفعالية المٌجَمَلة لهذه الآلية هي تثبيط ترجمة الرنا المرسال في الخلية، تدعى البروتينات الريبونوكليوتيدية بمعقد الإسكات المحرض بالرنا RNA-Induced Silencing Complex أو RISC. ويكون تثبيط الترجمة عبر آليتين اثنتين:

- طالما كان التكامل النوكليوتيدي Base-Pairing بين الرنا المحتوى ضمن معقد RISC وبين تسلسل الرنا المرسال تاماً Perfect، يقوم معقد RISC بشطر الرنا المرسال في منتصف القطعة التي يحصل فيها هذا التكامل النوكليوتيدي، ويتذكر لاحقاً الرنا المرسال. يمكن لمعقد RISC بعد تحطيمه للرنا المرسال أن يرتبط بجزيء رنا مرسال آخر ويحرض شطره أيضاً، وهكذا. تدعى جزيئات الرنا الصغيرة المسؤولة عن شطر الرنا المرسال عبر هذه الآلية بـ siRNAs.

- في حال كون التكامل النوكليوتيدي بين جزيئات الرنا المتداخلة ضمن معقد RISC وبين الرنا المرسال غير تام Imperfect، لا يُشَطَّر عندها الرنا المرسال. بل في المقابل، تتثبط فقط ترجمة الرنا المرسال المرتبط بشكل وثيق بمعقد RISC. تدعى جزيئات الرنا المسؤولة عن هذه الآلية لتثبيط الترجمة بجزيئات الرنا الأصغري miRNAs. لجزيئات miRNAs جينات عديدة كشف عن 125 جين منها في مجين الإنسان حتى الآن، تعطي كل جين منها لدى انتساخها جزيء رنا أصغرياً وحيد الطاق إلا أنه يحتوي على مناطق متكاملة ضمن الطاق الواحد يمكنها أن ينتهي بعضها على بعض لتشكل بنية ملقط الشعر التي يلتقطها لاحقاً معقد Dicer في هيولى الخلية ويشطرها، ويفكك بنيتها الثانوية مما ينجم عنه طاق واحد فقط من الرنا الأصغري بحجم 21 إلى 23 شفعاً نوكليوتيدياً يؤدي عمله كمثبط للترجمة بالآلية التي تم شرحها آنفاً.

في الحيوانات، يوجد التالي المستهدف من قبل معقد RISC في المناطق 3' غير المترجمة أو 3'UTR من جزيء الرنا المرسال، وعادة ما تتركز التسلسلات المستهدفة في هذه المنطقة.

5.3.7. التعبير الجيني وتنظيم المادة الصبغية Gene Transcription & Chromatin Organization

تتألف صبغيات حقيقيات النوى من أجزاء متساوية من الدنا والبروتين، ويشار إلى ذلك معاً بالمادة الصبغية أو الكروماتين Chromatin. وتختلف الخصائص الكيميائية للكروماتين على طول الصبغيات. ففي بعض المناطق على سبيل المثال، تكون بروتينات الهستونات، التي تشكّل معظم البروتينات في الكروماتين، مؤسّلة Acetylated (مضافاً إليها مجموعات من الأسيتيل)، وفي بعض المناطق الأخرى تكون بعض النوكليوتيدات Methylated (مضاف إليها مجموعات من الميثيل). ويمكن لهذه التعديلات الكيميائية أن تؤثر في الفعالية الانتساخية للجينات. كما تؤدي بروتينات الرزم Packaging في مناطق أخرى من الكروماتين دوراً مهماً في تنظيم التعبير الجيني.

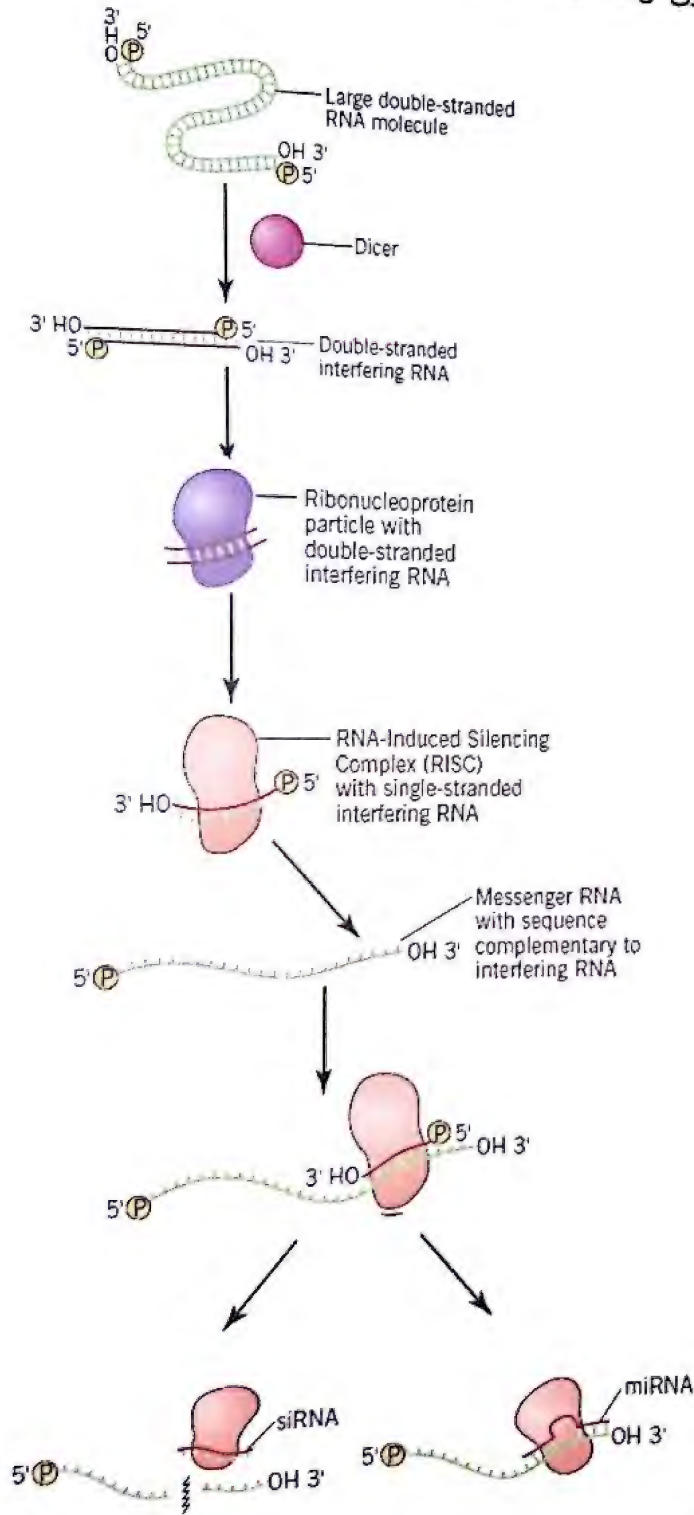
1.5.3.7. الكروماتين الحقيقي والكروماتين المتغير

يؤدي التغير في كثافة الكروماتين داخل النوى إلى اختلاف في تلوّن الصبغيات بالملونات المستعملة للكشف عنها. تدعى المادة المتلوّنة بشدّة بالكروماتين المتغير Heterochromatin، والمادة الأقل تلوّناً بالكروماتين الحقيقي Euchromatin (الشكل 7-21).

تم الكشف عن أن غالبية جينات حقيقيات النوى تقع في الكروماتين الحقيقي، وحين نقل بعض هذه الجينات إلى منطقة الكروماتين المتغير في بعض التجارب المخبرية، فإن هذه الجينات تتصرف بشكل غير اعتيادي، وفي بعض الحالات لا تبدي أي وظيفة. وقد قادت هذه الاكتشافات إلى علم حديث سمي بالتوالي المتخلق أو علم ما فوق الجينات Epigenetics الذي يُعنى بالصفات الموروثة ليس عن طريق وراثة تسلسل دنا الجينات نفسه بل عن طريق وراثة موقع الجينات في مناطق فعالة أو غير فعالة انتساخياً. وأوضح الكثير من الأبحاث أن الجينات الواقعة في المناطق الفعالة انتساخياً (الكروماتين الحقيقي) تكون مفتوحة Open وأكثر قابلية للارتباط بعوامل الانتساخ من تلك الجينات القابعة في الكروماتين المتغير حيث يكون الدنا في هذا الأخير ملتفاً بكثافة على البروتينات، ولا يمكن بذلك للعديد من عوامل الانتساخ الوصول إلى مواقع ارتباطها النوعية على شريط الدنا.

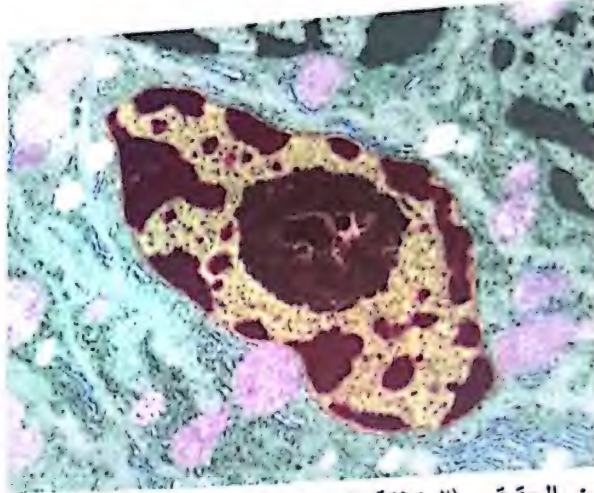
وقد طرح ذلك تساؤلات عدّة عما يحدث لانتفاف الدنا حول البروتينات خلال الانتساخ، وهل تتراوح الجسيمات النووية Nucleosomes، المؤلفة من التفاف الدنا حول بروتينات الهيستونات، بين الشكل المفتوح Open والمغلق Closed مع مرور بوليميراز الرنا؟ وجاءت الإجابة عن هذه التساؤلات بعد كشف أن الجسيمات

النوية تخضع للتغيير بتأثير معقدات بروتينية تسهل عمل بوليميراز الرنا. وتدعى هذه التغييرات تحضيراً للانتساخ بإعادة نمذجة الكروماتين .Chromatin Remodeling



(الشكل 7-20). التداخل بالرنا. يقوم إنزيم الدايسر بشطر جزيء رنا طويل مضاعف الطاق إلى جزيئات رنا مضاعف الطاق قصيرة (21-28 شفع مضاعف) يحولها معقد RISC إلى طاق أحادي يرتبط بوجود RISC مع التالي المتم له

في جزيء الرنا المرسال، ويقوم بتحطيمه في حال التكامل الكلي (إلى اليسار) أو بالارتباط الوثيق به مثبّطاً بذلك ترجمة الرنا المرسال (إلى اليمين).



(الشكل 7-21). بنية الكروماتين الحقيقي (المنطقة غير الكثيفة باللون الأصفر) والكروماتين المغاير (المنطقة الكثيفة باللون البني) داخل نواة خلية في الطور G1، وتبدو في الشكل أيضاً النوية Nucleolus كمنطقة كثيفة في منتصف النواة.

2.5.3.7. إعادة نمذجة الكروماتين Chromatin Remodeling

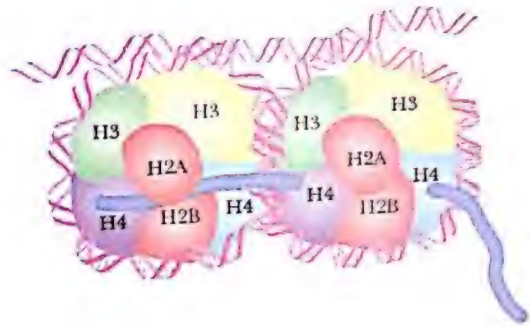
أضيف في العقدتين الماضيتين إلى مصطلح علم الجينات Genetics البادئة Epi ذات الأصل اللاتيني وتعني ما وراء أو فوق. ويهتم علم التخلق المتوالي Epigenetics أو علم ما وراء الجينات بالتغيرات الموروثة في التعبير الجيني، ولكن تلك المستقلة عن تسلسل الجينات نفسها التي تؤدي إلى إعادة نمذجة الكروماتين، بحيث تنعكس تلك التغيرات على مستويات جزيئات الرنا المرسال النوعية لبعض الجينات، وليس في تسلسل الأحماض الأمينية للبروتينات التي ترمزها. من أهم العوامل المسيطرة على التخلق المتوالي اثنان هما أستلة الهستونات ومثيلة الدنا.

1.2.5.3.7. أستلة الهستونات Histone Acetylation

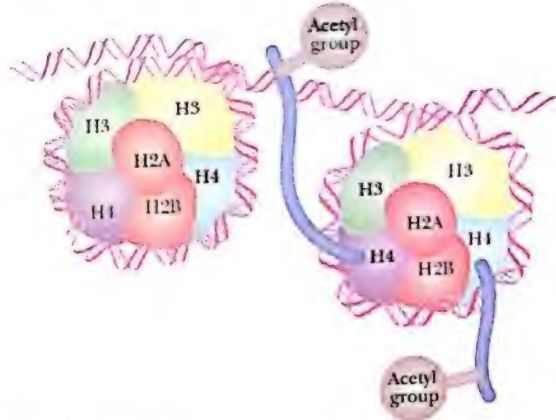
تم تحديد عدد من المعقدات المشاركة في إعادة نمذجة الكروماتين. من أهم تلك المعقدات الإنزيمات التي تضيف مجموعات أستيل إلى الحمض الأميني الليزين بمواقع محددة في هستونات الجسيمات النووية. وتدعى هذه الإنزيمات لذلك بناقلات أستيل الهستون Histone Acetyl Transferases أو HATs، إذ تبين أن أستلة الهستونات تترافق مع زيادة في التعبير الجيني، بسبب أن إضافة مجموعات الأستيل للهستون تُرخي الرزم الوثيق بين الدنا والهستونات في الجسيمات النووية (الشكل 7-22). يبدو أن فعالية بعض

إنزيمات الكيناز المُفسِّرة تسبق فعالية إضافة مجموعات الأسيتيل وتمهِّد لها، فعلى سبيل المثال تكون فسفرة ثمانية السيرين في الهستون 4 ضرورية لأستلة ثمانية الليزين في الهستون نفسه. تؤدي هذه التعديلات إلى إرخاء الكروماتين وجعله سهل الوصول من قبل عوامل الانتساخ، وبالتالي زيادة الفعالية الانتساخية. مع ذلك، يمكن للكروماتين الفعال أن تعاد نمذجته إلى الكروماتين غير الفعال. يتواسط هذا النوع من تكثف الكروماتين تعديلات كيميائية حيوية لهستونات الكروماتين؛ الأول هو نزع مجموعات الأسيتيل Deacetylation، وتقوم بذلك إنزيمات نازعات أسيتيل الهستونات Histone Deacetylases أو HDACs، والثاني هو المثيلة Methylation، التي تحفزها إنزيمات ناقلات ميتيل الهستونات Histone Methyl Transferases أو HMTs. إضافة لذلك، يمكن أن تجري المثيلة لبعض النوكليوتيدات في الدنا عبر مجموعة من الإنزيمات تدعى ناقلات ميتيل الدنا DNA Methyl Transferases أو DNMTs. ويكون الكروماتين الذي تعرّض لهذه التعديلات سواءً إزالة الأسئلة أم إضافة الميتيل غير فعالٍ انتساخياً. وسنحدث فيما يلي بشيء من التفصيل عن مثيلة الدنا (أو تمتيل الدنا).

A) AGGREGATED



B) DIS-AGGREGATED



(الشكل 7-22). (A) كروماتين غير مؤسّط، وتبدو فيه البروتينات مكدّسة ومتجمّعة بكثافة حول شريط الدنا. (B) تغير بنية الكروماتين بعد أسئلة ذيل الهستون H4، وتبدو هنالك منطقة من الدنا خالية من الهستونات حيث يمكن لعوامل الانتساخ الارتباط بها.

3.5.3.7. مَثِيلَة (أو تمتيل) الدنا DNA Methylation

من أصل ما يقارب 3 مليارات شفع أساس في مجين الثدييات، يكون نحو 40% منه تكامل بين شفع الغوانين سيتوزين، وتكون نحو 2 إلى 7% من هذه الأشفاع مُمَثَّلَة (أضيف لها مجموعة ميتيل إلى السيتوزين على الكربون 5). ويوجد معظم أسس السيتوزين الممثيلة في الأشفاع المثوية:

5' mCpG 3'

3' GpCm 5'

حيث ترمز mC إلى الميثيل سيتوزين و p إلى الرابطة الفسفورية ثنائية الإستر بين السيتوزين والغوانين. وتُختَصَر هذه البنية عند الإشارة إليها بـ mCpG أو CpG.

يكون تَوَزَع ثنائيات CpG غير متناسق في المجين، مع وجود كثير من قطع الدنا القصيرة التي تحوي كثافة أعلى من ثنائيات CpG من غيرها من مناطق المجين. تدعى هذه القطع الغنية هذه الثنائيات بجُزُر CpG أو CpG Islands، يتراوح طولها عادةً بين ألف وألفين شفع أساس. يوجد في المجين البشري نحو 30 ألف من هذه الجزر تتوضع غالباً قرب مواقع انتساخ الجينات، وفي حالات كثيرة في منطقة المحضض Promoter نفسه، حيث غالباً ما يكون السيتوزين الواقع في هذه الجزر غير مُمتلئ. أما في المواضع التي يكون فيها السيتوزين في جزر CpG ممتلئاً، يكون الانتساخ مثبّطاً. ويشاهد ذلك بصورة كبيرة لدى إناث الثدييات، إذ يكون الصبغي X غير الفعال مُمتلئاً بشدة. ويبدو أن هنالك بروتينات ترتبط بجزر CpG الممتلئة قرب مواقع الانتساخ وتمنع بوليميراز الرنا من الارتباط مثبّطاً بذلك فعالية الانتساخ للجين التي تليها.

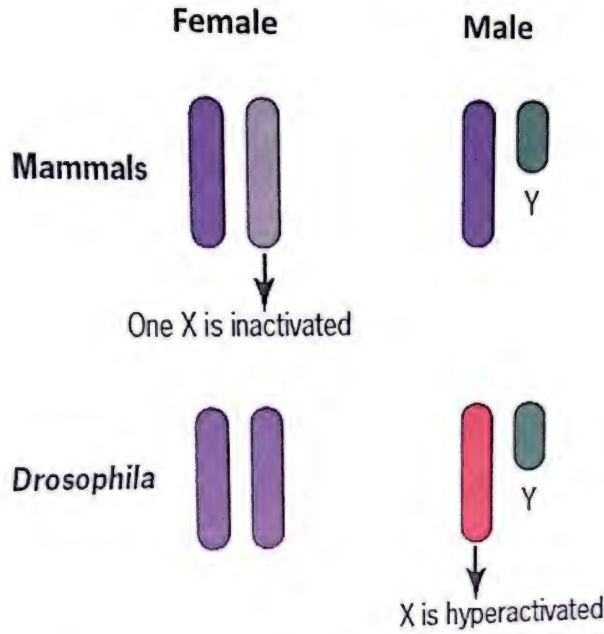
تنتقل حالة الميثيلة بشكل نسلي Clonal من الخلية الأم إلى الخلية البنت خلال الانقسام. وحين يكون تتالي الدنا ممتلئاً، يكون كل من طاقى الدنا ممتلئاً. وبعد تضاعف الدنا نصف المحافظ والمؤدي إلى اصطناع طاق جديد مكمل لكل من طاقين دنا الخلية الأم، تقوم إنزيمات معينة بميثيلة كل من الطاقين الجديدين بشكل تحافظ من خلاله على نمط الميثيلة نفسه الكائن في دنا الخلية الأم. وهكذا، يعدّ نمط الميثيلة أحد العناصر الأساسية للتخلق المتوالي Epigenetics، الذي تحافظ فيه الخلايا البنت على نفس نمط الميثيلة، ومن ثم نفس الفعالية الانتساخية، لجينات الخلايا الأم عند الانقسام.

ولا بدّ أخيراً من الإشارة إلى أنّ أسئلة الهيستونات تعدّ أيضاً تعديلاً مرتبطاً بالتخلق المتوالي، على الرغم من أن آلية الحفاظ على نفس نمط الأسئلة بين الخلايا الأم والبنت غير معروف بدقة حتى الآن لكن هنالك دلائل على أنه مرتبط أيضاً بنمط الميثيلة في شريط الدنا.

5.3.7. تفعيل وتشبيط كامل الصبغيات

تكون الكائنات التي تملك جملة تحديد الجنس من نمط XX/XY أمام مشكلة توحيد فعالية الجينات المرتبطة بالصبغي X في كلا الجنسين. وفي الثدييات، يتم حل هذه المشكلة بتشبيط عشوائي لأحد الصبغيين X لدى الإناث (الشكل 7-23). وهكذا، تمتلك كل أنثى العدد نفسه من الجينات الفعالة انتساخياً لدى الذكر. مع ذلك، ففي ذبابة الخل، لا يحصل تشبيط لأي من الصبغيين X لدى الأنثى، بل تحصل زيادة كبيرة في الفعالية

الانتساخية للجينات الواقعة على الصبغي X لدى الذكر و حيث تعوّض عن وجود نسخة واحدة من الصبغي X لديه. يهدف ما سبق، سواء في الثدييات أو ذبابة الخل إلى ما يدعى معاوضة الجرعة الجينية Gene Dosage Compensation التي تحقق التقارب في مستويات البروتينات المرمّزة بالجينات الموجودة على الصبغي X لدى كل من ذكر وأنثى الكائن الحي.



(الشكل 7-23) معاوضة الجرعة الجينية للجينات الموجودة على الصبغي X. (أعلى) لدى الثدييات تتم المعاوضة بتنشيط عشوائي لأحد الصبغيات X لدى الأنثى. (أسفل) في ذبابة الخل تتم المعاوضة بزيادة الفعالية الانتساخية للصبغي X لدى الذكر.

وكمثال عن تنشيط كامل الصبغي سندرس الآلية الجزيئية لتنشيط الصبغي X لدى إناث الثدييات (الشكل 7-24 يسار).

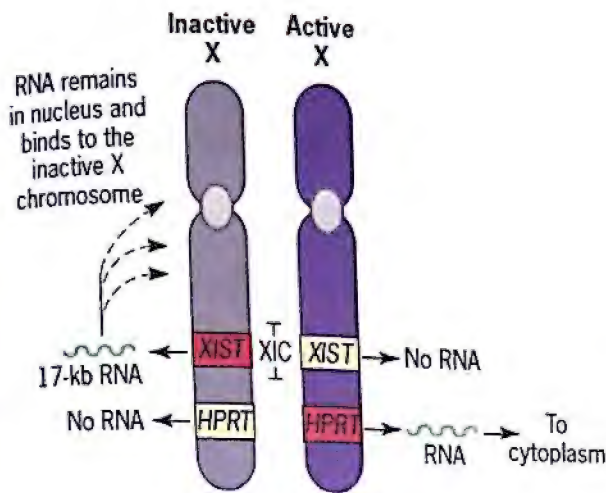
يبدأ تنشيط الصبغي X في موقع محدد يدعى بمركز تنشيط الصبغي X Inactivation Center أو XIC، ومن ثم يمتد في كلا الاتجاهين ليشمل كامل الصبغي X. مع ذلك، لا تكون جميع الجينات صامتة وغير فعالة في الصبغي المثبط. ومن الجينات التي تبقى فعالة انتساخياً جين تدعى XIST وهي اختصار X Inactive Specific Transcript أو المُنْتَسَخ النوعي للصبغي X المثبط، وتقع هذه الجين في موقع XIC نفسه. في الإنسان، ترمّز جين XIST جزء رنا يبلغ طوله 17 ألف شفع أساس لا يُترجم إلى بروتين، ويحيث يكون الرنا المنتسخ نفسه هو الجزء الفعال في عملية تنشيط الصبغي، ويتوضّع في النواة دون أن يخرج إلى هيولى الخلية.

كشفت كثير من الأبحاث أن التعبير الجيني عن جين XIST يبدأ في كلا الصبغيين X لدى الإناث في المرحلة الجنينية لكن الرنا الناتج عن الانتساخ يكون غير ثابتاً ويتدرك بسرعة. وخلال تطور الإناث، يتم تثبيت الرنا المنشخ لواحد فقط من الصبغيين X بينما يتدرك الرنا للصبغي الآخر بالإضافة إلى تثبيط انتساخ جين XIST في الصبغي الذي يبقى فعالاً عبر مثيلة محضض جين XIST.

وهكذا، لدى الأنثى، يصبح أحد الصبغيين X (وهو الذي استمر فيه انتساخ جين XIST) مغطىً بجزء رنا XIST، بينما يبقى الصبغي X الآخر (وهو الذي عطل فيه انتساخ جين XIST) حراً وغير مغطى برنا XIST. ويبدو أن اختيار أي من الصبغيين سيتم تثبيطه وتغطيته بجزء رنا XIST يكون عشوائياً. وهكذا، تبقى معظم الجينات الموجودة في الصبغي X المثبط غير فاعلة انتساخياً، بينما تبقى جينات الصبغي النشط وغير المرتبط برنا XIST فاعلة انتساخياً. وبكلمات أخرى، فإن الصبغي X الذي يبقى نشيطاً وفعالاً هو الصبغي الذي تثبط فيه الجين XIST ولا تعطي جزء رنا XIST.

يمكن تحديد الصبغيات X المثبطة بسهولة في خلايا الثدييات. وفي الطور البيني Interphase، تتكشف هذه الصبغيات إلى كتلة تتلون بشدة متوافقة مع غشاء النواة، وتدعى جسيم بار Barr Body، ويزال تكتفها فقط في الطور S من دورة الخلية حتى تتمكن من مضاعفة الصبغي قبل أطوار الانقسام.

وأخيراً، يمكننا أن نتحدث في هذا السياق عن ظاهرة طريفة تبدوفي القطط التي تدعى قطة كاليكو Calico Cats المبرقعة، وهي تطبيق مباشر لتثبيط الصبغي X لدى إناث الثدييات (الشكل 7-24 يمين). ترمز البروتينات المسؤولة عن لون الفراء لدى هذه القطط جينات تتوضع على الصبغي X. وإذا افترضنا أن أحد الصبغيين يحتوي على أليل يعطي بروتيناً أسود اللون والآخر يعطي بروتيناً بني اللون فإن المفترض أن يكون لون فراء القطة مزيجاً من كلا اللونين الأسود والبني في حال كان نمط الوراثة متساوي السيادة Codominant. لكن وبما أن أحد الصبغيين X يكون فاعلاً انتساخياً والآخر مثبطاً انتساخياً، وبما أن اختيار تثبيط أي من الصبغيين يكون باكراً في المرحلة الجنينية وعشوائياً، لذلك تحتفظ الخلايا التي تثبط لديها الصبغي الحامل للأليل أسود اللون بالأليل اللون البني الفاعل انتساخياً، والعكس بالعكس. وبما أن الصبغي المثبط يكون هونفسه في جميع ذراري الخلية الأم التي اختارت تثبيط أحد الصبغيين، وأبقت على الآخر فعالاً، عندئذٍ، نرى أن عدداً كبيراً من خلايا البشرة لدى قطة كاليكو يكون لديها نفس لون الفراء البني (الأليل الأسود في الصبغي المثبط)، وتظهر بشكل لطخة بنية، بينما يكون لدى عدد آخر من خلايا البشرة نفس لون الفراء الأسود (الأليل البني في الصبغي المثبط). وهكذا، تظهر على فراء قطة كاليكو عدة لطخات متوزعة بين اللونين البني والأسود بين كثير من الخلايا الأخرى التي سيطرت فيها جينات أخرى، ومنعت ظهور أي من اللونين، فأعطت لون الفراء الأبيض.



(الشكل 7-24). تثبيط الصبغي X في الخلايا الجسمية عند الإناث. (يسار) دور جين **XIST** الفعالة انتساخياً في الصبغي X المثبط التي تعطي جزيء رنا يبقى في النواة ويرتبط على طول الصبغي X المثبط مانعاً بذلك انتساخ الجينات التي تكون عليه، ومنها على سبيل المثال جين **HPRT** التي يساهم منتجها في استقلاب البورينات، في حين تكون جين **XIST** غير فعالة انتساخياً في الصبغي X الآخر وبذلك تبقى الجينات الموجودة عليه فعالة انتساخياً، ومنها **HPRT**. (يمين) قطعة **Calico** المبرقعة التي تظهر اللطخات في فرائها نتيجة تثبيط كامل الصبغي X ووجوده كجسيم بار **Barr Body** في الخلية الأم التي تعطي عدداً من الخلايا البنات يكون في جميعها جسيم بار هو الصبغي X المثبط نفسه في الخلية الأم. فإذا كان جسيم بار في الخلية الأم يحتوي على الأليل ذي اللون البني تظهر جميع خلايا اللطخة الناتجة عن انقسام الخلية الأم بلون أسود، والعكس بالعكس بالنسبة لخلايا اللطخة البنية، إذ يكون الأليل الأسود في جسيم بار.

خاتمة

تعرفنا في هذا الفصل على بعض من أهم آليات ضبط التعبير الجيني لدى كل من بدائيات وحقيقيات النوى، ووجدنا أن تلك الآليات تختلف بشكل جذري بينها. ومن أهم الأسباب لذلك أن كلاً من عمليتي الانتساخ والترجمة تحدثان بشكل متزامن في بدائيات النوى بسبب غياب النواة والغلاف النووي، بينما يحتم وجود النواة في حقيقيات النوى وجود آليات منفصلة لضبط التعبير الجيني في كل من نواة وهيولى الخلية. من جهة أخرى، تبدي بدائيات النوى مرونة عالية جداً في التكيف مع محيطها الأمر الذي ينعكس على سرعة استجاباتها للتغير في الشروط البيئية التي تيسرها منظومة المشغل التي تمتلكها بينما تغيب هذه المنظومة في معظم حقيقيات النوى الذي يميزها أيضاً تمايز خلاياها الذي يحتم وجود عوامل انتساخ نوعية للنسج تتحكم انتساخ جينات نوعية فقط في بعض الخلايا دون غيرها. وأخيراً، تفرض نمذجة الكروماتين في حقيقيات النوى نفسها بقوة كآلية تخلق متوالٍ تتحكم في تشغيل وإيقاف عدد هائل من الجينات مرة واحدة عبر التحكم في موقع هذه الجينات في الكروماتين الحقيقي والمتغير وبحيث تعطي للخلايا المتمايزة هويتها التي تورثها للخلايا البنات الناتجة عن انقسامها.

الفصل الثامن

تقانات الهندسة الوراثية

Genetic Engineering Technologies

المحتويات Contents

- | | |
|---|--|
| 1.8. مقدمة | 3.5.8. المصفوفات الدقيقة |
| 2.8. تضخيم الدنا | 6.8. التشخيص الجزيئي للأمراض الوراثية |
| 1.2.8. تفاعل البوليميراز التسلسلي التقليدي | 1.6.8. كشف وجود الطفرات عن طريق المعاملة الإنزيمية |
| 2.2.8. تفاعل البوليميراز التسلسلي بالنسخة العكسية | لنواتج تفاعل الـ PCR |
| 3.2.8. تفاعل البوليميراز التسلسلي اللحظي والكمي | 2.6.8. كشف وجود الطفرات باستخدام تقنية dHPLC |
| 3.8. تقانة الدنا المأشوب | 3.6.8. كشف وجود الطفرات عن طريق تحليل منحنى الانصهار |
| 4.8. سلسلة الدنا | 7.8. المعالجة الجينية |
| 5.8. تقانات التهجين | 8.8. الكائنات المعدلة جينياً |
| 1.5.8. تقانات التتبع | 1.8.8. إقصاء الجين |
| 1.1.5.8. تتبع ساوثرن | 2.8.8. إضافة الجين |
| 2.1.5.8. تتبع نورثرن | 3.8.8. نقل النواة الجسدية والاستسناخ |
| 3.1.5.8. تتبع ويسترن | 9.8. خاتمة. |
| 2.5.8. التهجين التآلقي في الموضع | |

1.8. مقدمة

إن من أهم ما يميز تطور علم الوراثة خلال العقدين الماضيين هو الانتقال من مفهوم الجين Gene إلى مفهوم المجين Genome، ولاحقاً إلى علوم المجين Genomics. في الواقع، لم يكن هذا التوسع في المفاهيم ليحدث لولا التقدم الهائل في الوسائل التقنية التي مكّنتنا من دراسة تسلسل الجينات التي نملكها ومقايضة التعبير الجيني للآلاف منها بعد أن اقتصرَت الدراسات في القرن الماضي على مجموعة من الجينات لا يتجاوز عددها أصابع اليدين. وسنعرّف في هذا الفصل كثيراً من التقانات الجزيئية التي تمكّنا اليوم من فهم الآليات المعقّدة التي تتحكّم بجينائنا وكيفية وراثتها، ومن ربط ذلك كلّهُ مع النمط الظاهري Phenotype للكثير من الأمراض الوراثية، الأمر الذي لا شك أنه سيعمّق فهمنا لوراثة الجينات الطافرة وآليات التعبير الجيني، وينعكس إيجاباً على تطوير سبل فعالة في معالجة الكثير من الأمراض التي يبدو كثير منها مستعصياً حتى يومنا هذا.

2.8. تضخيم الدنا DNA Amplification

يحتوي المجين الفردي Haploid Genome لدى الثدييات قرابة 3 مليارات شفع من النوكليوتيدات (في الإنسان المجين الفردي هودنا الـ 23 صبغياً). في المقابل يبلغ متوسط حجم إكسومات الجين الواحدة إذا ما جُمعت معاً نحو 3 آلاف شفع نوكليوتيدي، مما يمثل جزءاً من المليون من كامل حجم دنا المجين الفردي. وهكذا، يشبه البحث عن التتاليات المرمّزة في الجينات ضمن الدنا المجين كالبحث عن إبرة في كومة قش. استدعى ذلك البحث لعقود عن وسائل لتضخيم نوعي لتلك التسلسلات، إذ تعتمد معظم التقانات المستخدمة في تحليل الجينات وتتاليات الدنا الأخرى على وجود تلك التتاليات بكميات معتبرة وبنقاوة عالية. وكان النجاح أخيراً من نصيب العالم Kary Mullis الذي نال جائزة نوبل في الكيمياء عام 1993 لاكتشافه المثير وهتفاعل بوليميراز الدنا التسلسلي الذي مهد الطريق لتضخيم تتاليات نوعية من الدنا بطريقة سهلة وبسيطة. واستبدل هذا التفاعل الطريقة الأقدم نسبياً التي كانت تعتمد على إدخال الجين أو التتالي المراد تضخيمه ضمن الجراثيم والاعتماد على المنظومة الطبيعية لدى الجرثوم لنسخ الصبغي أو البلاسميد الخاص به لتضخيم التتالي المستهدف المُدخل إلى الجرثوم. وتتبع هذه الطريقة الأخيرة تقانة الدنا الماشوب Recombinant DNA Technology التي سنفرّد لها فقرة خاصة لاحقاً.

1.2.8. تفاعل البوليميراز السلسلي التقليدي

Conventional Polymerase Chain Reaction (PCR)

يعدّ تطوير تفاعل الـ PCR في ثمانينيات القرن الماضي، الذي سمح بتضخيم قطع معينة من الدنا وإنتاج ملايين النسخ منها، أهم التطورات النوعية الذي ساهم في الكشف عن الأمراض الوراثية على الإطلاق وتفرّع عنه كثير من التقانات الأخرى.

يعتمد مبدأ التضخيم باختصار على فصل طاقى الدنا الأصليين واستخدام مشارع Primers نوعية للتتالي المراد تضخيمه ترتبط بالتسلسل النوكليوتيدي المتم لها بعد انصهار طاقى الدنا الأصليين وتفكك الروابط الهيدروجينية بين النوكليوتيدات المتقابلة نتيجة الحرارة العالية، ليقوم إثر ذلك إنزيم بوليميراز الدنا DNA Polymerase أنتاج طاقين متممين لكلّ من الطاقين الأصليين. ويحدث التفاعل بشكل متوالية هندسية لتنتج مئات ملايين النسخ من القطعة في غضون ساعات قليلة (الشكل 8-1). يستخدم هذا التفاعل آلية مشابهة نوعاً ما لآلية تضاعف الدنا في الطور S من دورة الخلية، حيث يبدأ التضاعف في الخلية بفصل طاقى الدنا أنزيم الهليكاز Helicase بدرجة حرارة الخلية 37° س، ومن ثم يقوم إنزيم بوليميراز الدنا برصف النوكليوتيدات المتممة لكل طاق، كلّ على حدة، معتمداً على مشارع أولية من الرنا يضعها إنزيم بوليميراز الرنا RNA Polymerase (أنظر الفصل الرابع). مع ذلك، تشمل الاختلافات الجوهرية بين تفاعل PCR المجرى في المختبر وتضاعف الدنا الخلوي ما يلي:

- يتم فصل طاقى الدنا الأصليين وتحطيم الروابط الهيدروجينية بينهما بتسخين عينة الدنا إلى الدرجة 95° س بدلاً من استخدام إنزيم الهليكاز.
- تُستخدم في تفاعل PCR مشارع من الدنا DNA، وليس من الرنا RNA، عادةً بطول 18-25 أساس نوكليوتيدي متممة في تسلسلاتها للنهاية 3' لكلّ من طاقى الدنا الأصليين حيث ترتبط بهذه النهاية وتشكّل نقطة البداية لعمل إنزيم بوليميراز الدنا.
- يُستخدم في التفاعل إنزيم بوليميراز الدنا المستخلص من جراثيم *Thermus aquaticus*، وهي من العتائق Archea التي تعيش على سفوح البراكين وتصنّف من أليفات الحرارة Thermophiles. يدعى هذا الإنزيم بـ Taq DNA Polymerase وهي الأحرف الثلاثة الأولى من اسمه الثنائي، ويتحمل حرارة تصل إلى مئة درجة مئوية دون أن يحصل تخرب في بنيته. تكون الحرارة المثلى لعمل هذا الإنزيم هي الدرجة 72 م بدلاً من الحرارة 37 م المثلى لعمل إنزيمات الثدييات.

ويتألف تفاعل PCR من ثلاث خطوات أساسية تشكّل جميعها ما يدعى بالدورة Cycle:

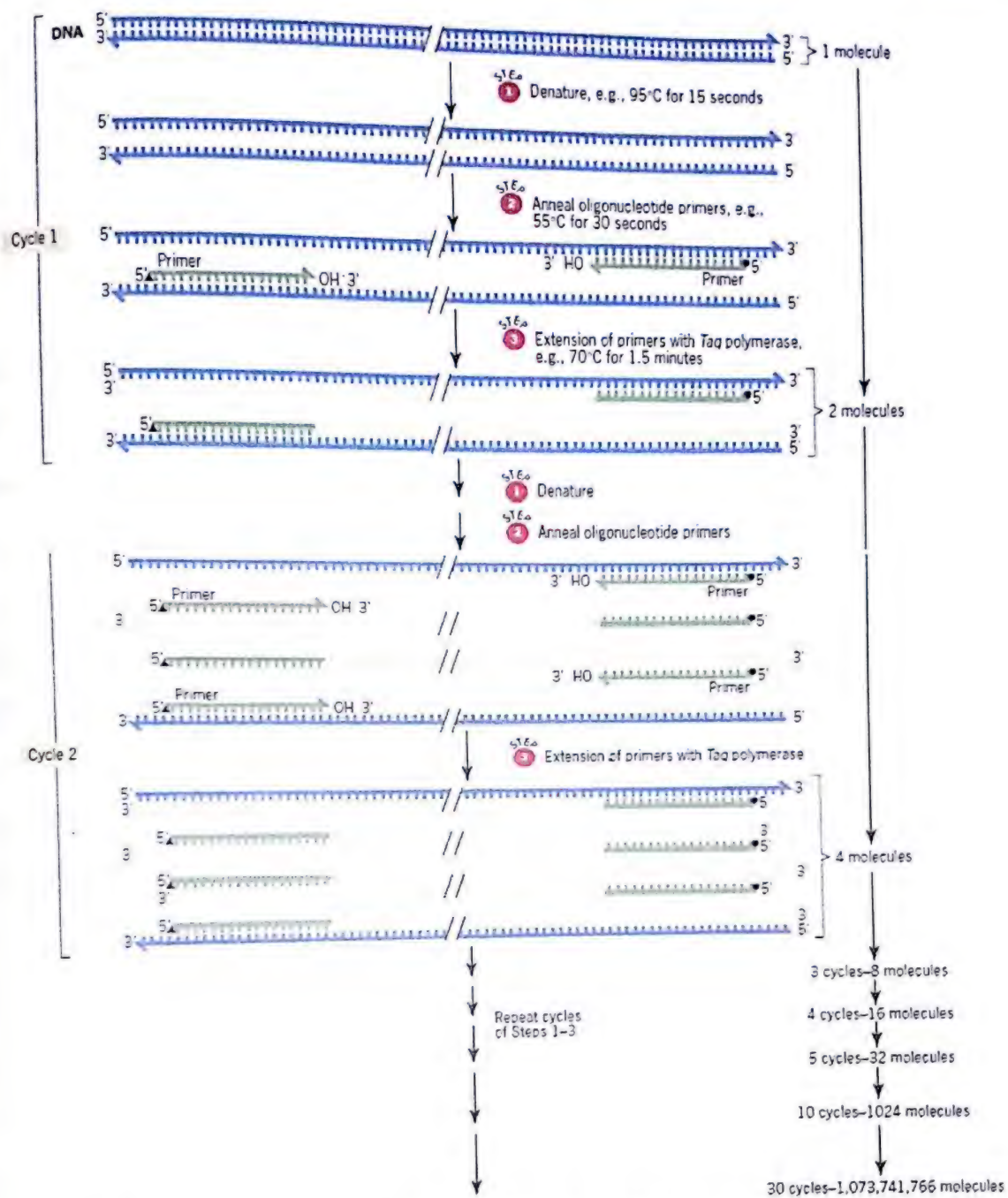
1. فصل طاقى الدنا المراد تضخيمه بدرجة الحرارة 94 أو 95 م، وتدعى هذه الخطوة بالصهر Melting أو التمسّخ Denaturation.

2. ارتباط مشاريع الدنا بالتسلسلات المتممة لها في النهاية 3' من كل من طاقى الدنا، وتدعى هذه الخطوة بالارتباط Annealing، وتتم عادة في درجة حرارة تتراوح بين 50 و 60 م.

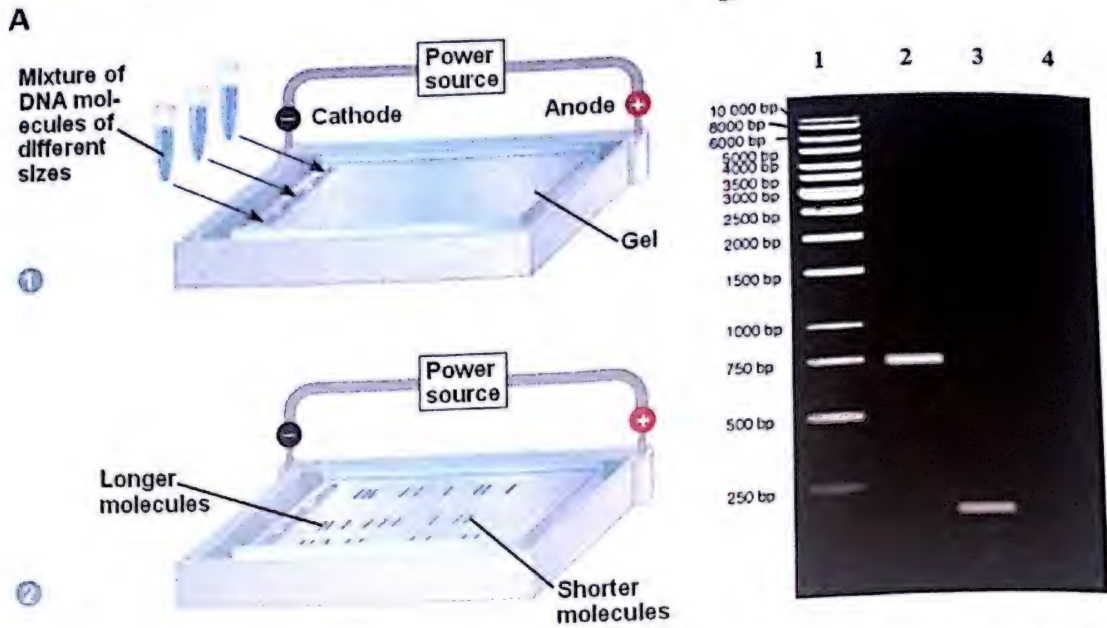
3. رصف النوكليوتيدات المتممة لتسلسل دنا الطاقين الأصليين من قبل إنزيم Taq معتمداً في ذلك على المشاريع المرتبطة بالدنا في الخطوة السابقة، إذ يقوم الإنزيم بإطالة الدنا المتمم لتسلسل الطاقين بالاتجاه 5' إلى 3' للطاق الجديد الذي يصطنعه بدءاً من نقطة ارتباط تلك المشاريع بالدنا الأصلي. وتدعى هذه الخطوة بالإطالة Extension.

تُشكل الخطوات الثلاث السابقة دورة واحدة One Cycle يُعمل على تكرارها عادة بين 25 إلى 30 مرة. ويُستخدم لذلك جهاز يدعى بالمدور الحراري Thermocycler وظيفته التنقل بين درجات الحرارة الثلاث (الصهر والارتباط والإطالة) بسرعة كبيرة تبلغ ثواني معدودات، بحيث لا يستغرق التفاعل بأكمله عادة سوى بضع ساعات نحصل في نهايتها على مئات ملايين النسخ من جزيء الدنا المضخم (الشكل 8-1).

تُفصل شدة الدنا الناتجة عن التضخيم في تفاعل الـ PCR التقليدي باستخدام الرحلان الكهربائي Electrophoresis الذي يعتمد على شحنة الدنا السالبة التي تسمح له بالعبور من القطب السالب إلى الموجب عبر هلامة مكونة من جزيئات مادتي البولي أكريل أميد Polyacrylamide أو الآغاروز Agarose (الشكل 8-2). تسمح هلامات البولي أكريل أميد بالفصل الجيد بين شدة الدنا ذات الأطوال المختلفة، حيث يمكن لهذه الهلامات بتركيز عالية أن تفرق بين قطعتي دنا يختلف بعضهما عن بعض بنوكليوتيد واحد فقط، ومن ثم تُمكن من كشف طفرات الإحكام Insertion أو الخبن Deletion (أنظر الفصل التاسع). إلا أن صعوبة تطبيق هذه الهلامات المتطلبة للجهد والوقت من جهة، وسمية مادة البولي أكريل أميد من جهة أخرى، قد حالا دون الانتشار الواسع لهذه الهلامات حيث اقتصر استخدامها على المخابر البحثية، واستعيض عنها بهلامات الآغاروز الأسهل تحضيراً والأقل سميةً على الرغم من أنها لا تحقق قدرة الفصل أو الميز Resolution نفسه. وطُور لاحقاً الرحلان الكهربائي الشعري Capillary Electrophoresis، إذ يجري فصل قطع الدنا عبر هلامات معلقة مسبقاً في أنابيب شعرية تُحقق ميزاً عالياً بين شدة الدنا المختلفة في أطوالها. وتُستخدم في الرحلان الكهربائي أنواعه المختلفة عيارات Standards تتألف من قطع من الدنا معروفة الوزن الجزيئي ترحل إلى القطب الموجب تبعاً لحجومها، وتُمكن من معرفة حجم القطع المضخمة بتفاعل الـ PCR (الشكل 8-2B).



(الشكل 8-1). تفاعل البوليميراز التسلسلي PCR. ويبين الخطوات الثلاث المشكّلة لدورة واحدة في تفاعل الـ PCR تبدأ بصهر طاقي الدنا عند درجة حرارة مرتفعة ثم ترتبط المشارع النوعية في النهاية 3' لكل من طاقي الدنا الأصليين في مواقع النوكليوتيدات المتممة لها، ثم يقوم إنزيم بوليميراز الدنا في خطوة الإطالة بإتمام تصنيع الطاقين الجديدين المتممين للطاقيين الأصليين. عند تكرار الدورات 30 مرة نحصل على نحو مليار نسخة من الدنا المضخم لكل جزيء واحد من دنا الأصلي.



(الشكل 8-2). الرحلان الكهربائي لنواتج تضخيم الدنا بتفاعل PCR تقليدي (A) توضع عينات الدنا الحاوية على عدة قطع من الدنا مختلفة الحجم والمشحونة سالباً قرب القطب السالب ويطبق عليها فرق جهد كهربائي، لتعبر هذه القطع داخل وعبر جزيئات الهلامية باتجاه القطب الموجب وتنفصل قطع الدنا تبعاً لحجمها، بحيث تعبر القطع الصغيرة جزيئات الهلامية بشكل أسرع من القطع الكبيرة. (B) رحلان كهربائي لنواتج تفاعل PCR (2،3) مختلفي الحجم، بالمقارنة مع نتيجة سلبية (4) لتفاعل الـ PCR. ويبدو أيضاً مزيج الدنا العياري (1) ويتألف من قطع من الدنا معروفة الوزن الجزيئي مقدراً بزوج الأسس النوكليوتيدية (bp) ترحل تبعاً لحجمها وتساعد في تقدير حجم قطع الدنا في العينات المجهولة. (المنتج في 2 هو بطول يقارب 750 شفع أساس، والمنتج في 3 هو بطول أقل من 250 شفع أساس)

2.2.8. تفاعل البوليميراز السلسلي بالناسخة العكسية

Reverse Transcriptase PCR (RT-PCR)

يعدّ تفاعل RT-PCR أحد تنويعات تفاعل الـ PCR التقليدي والمختلف عنه أن المادة الوراثية الأصلية للأول هي جزيئات الرنا المرسال mRNA بدلاً من جزيئات الدنا DNA. يعتمد هذا التفاعل على ما يلي (الشكل 8-3):

- وجود عديد الأدينين Poly A في النهاية 3' لجزيء الرنا المرسال، وهومن التعديلات اللاحقة لانتساخ الرنا المرسال البدئي (انظر الفصل الخامس).
- استخدام مشاريع مؤلفة من عديد الثيمين Poly T التي ترتبط بعدد الأدينين في النهاية 3' لجزيء الرنا المرسال.
- استخدام إنزيم الناسخة العكسية Reverse Transcriptase المستخلص من أحد أنواع الفيروسات القهقرية Retroviruses، التي تمتلك مجيئاً من الرنا RNA Genome، وتعمل بشكل طبيعي على إعادة نسخه من جزيئات الرنا RNA إلى الدنا DNA بهدف غرس مجين

الفيروس في مجين خلايا الكائن المضيف. ويدعى ذلك بالنسخ العكسي Reverse Transcription لتمييزه من انتساخ الدنا DNA Transcription إلى الرنا المرسال الذي يحصل بشكل طبيعي في جميع الخلايا.

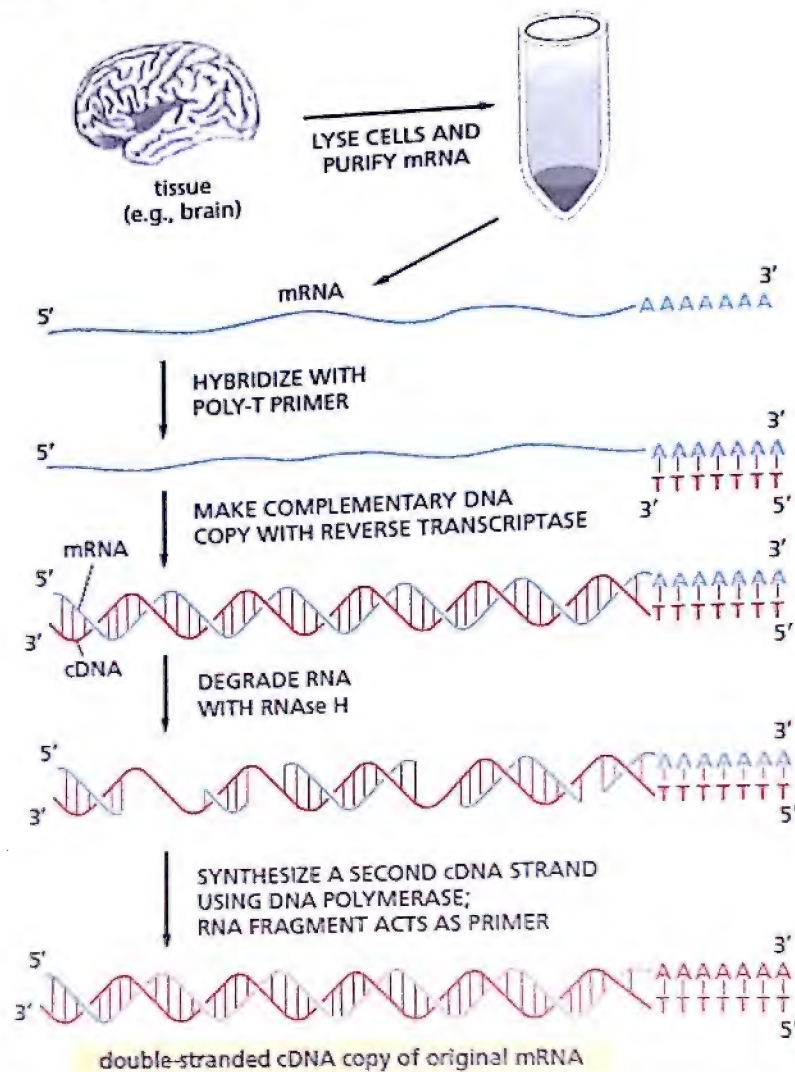
ولدى استخدام هذه الكواشف الثلاثة يتم نسخ طاق متمم من الدنا لجزيء الرنا المرسال يدعى بمتّم الدنا Complimentary DNA أو اختصاراً cDNA. يتم لاحقاً تحطيم جزيء الرنا المرسال الأصلي عبر استخدام إنزيم RNase الذي يقوم بحلّمة الروابط بين النوكليوتيدات الريبية لجزيء الرنا، ومن ثمّ يُضاف إنزيم DNA Polymerase لتضخيم الـ cDNA باستخدام مشارع مؤلفة من قطع الرنا المتبقية نفسها، أو مشارع دنا نوعيّة DNA primers وبشكل مشابه لخطوات الـ PCR التقليدي، حيث يرتبط المشرع النوعي لتسلسل الدنا المتمم عند النهاية 3' لجزيء الـ cDNA ليتشكّل طاقان من الدنا بعد إضافة إنزيم بوليميراز الدنا، لتبدأ لاحقاً مراحل تضخيم طاق الدنا الناتج بشكل مطابق لما تم شرحه سابقاً (الشكل 8-1). يمكن الاستفادة من تفاعل الـ RT-PCR بتحرّي جزيئات الرنا الفيروسي في مصل الأفراد الذين يشك بإصابتهم بفيروس معيّن كفيروس الإيدز، إذ يستخلص الرنا من بلاسما الدم ومن ثمّ يجرى تفاعل الـ RT-PCR ويرحّل ناتج التضخيم ويقارن مع عينات شاهدة غير مصابة (الشكل 8-4).

3.2.8. تفاعل البوليميراز السلسلي اللحظي والكمّي

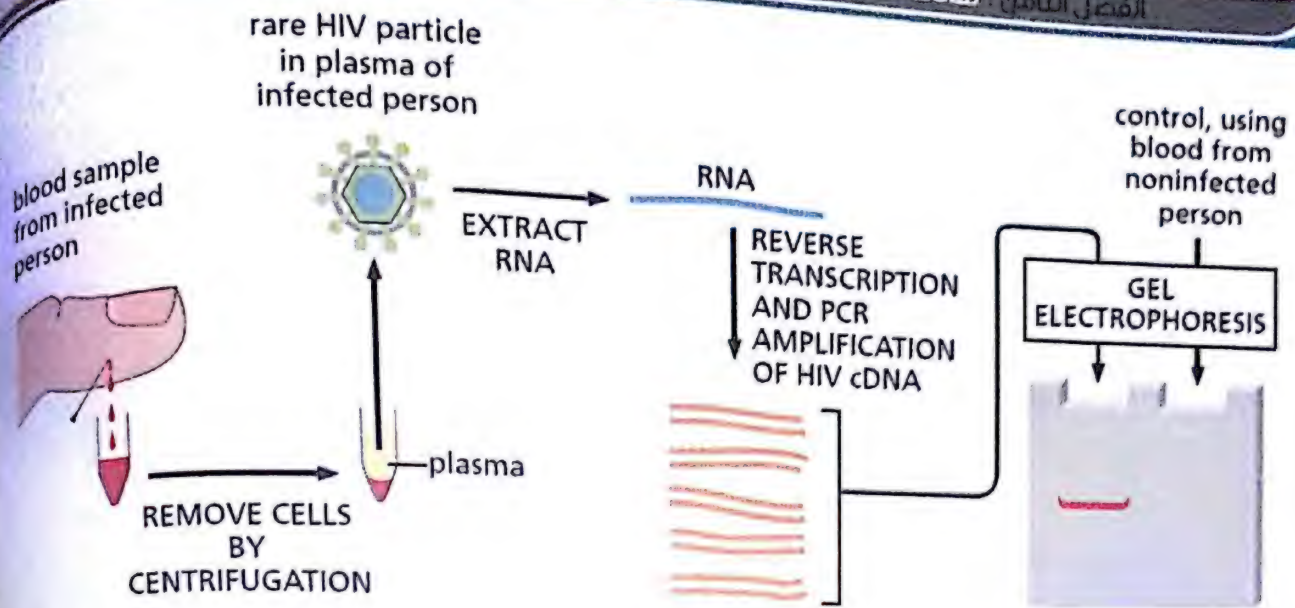
Quantitative Real Time PCR (Q-PCR)

يتألف أي تفاعل إنزيمي من طورين اثنين؛ الطور الخطي Linear Phase الذي تتراكم فيه نواتج التفاعل بشكل أسي ومتزايد، وطور الهضبة Plateau Phase الذي يحصل فيه إشباع للمواقع الإنزيمية بركازات التفاعل Reaction Substrates أو يتنبّط فيه الإنزيم المحفّز نتيجة بعض منتجات التفاعل نفسها. ويخضع تفاعل الـ PCR الإنزيمي لكلا الطورين بحيث تتزايد نسخ الدنا المضخّم بشكل أسي في الطور الخطي، ومن ثمّ يبدأ طور الهضبة الذي يبقى عدد نسخ الدنا في ثابتهً أولاً يمكن فيه الكشف عن تزايد نواتج التضخيم، حيث تبدو وكأن عددها بقي ثابتاً.

إن من تطبيقات تفاعل الـ PCR هي قياس العدد البدئي لنسخ الدنا الموجودة في عينة ما. على سبيل المثال، قياس حجم الإصابة الفيروسية في خلايا ما عبر قياس عدد نسخ الدنا DNA Copy Number المضخّم بتفاعل الـ PCR. وتكمن المشكلة الأساسية في أن تفاعل الـ PCR يخضع للتثبيط بعد عدد معيّن من دورات التضخيم مما لا يمكن معه تحديد عدد النسخ البدئية بشكل دقيق. لأجل هذا، أجري تعديل على تفاعل PCR التقليدي يقيس تراكم منتجات الدنا المضخّم بشكل لحظي Real-time وكمّي Quantitative خلال الطور الخطي للتفاعل الإنزيمي، وليس في نهاية التفاعل كما هو الحال ترحيل نواتج التفاعل التقليدي على الهلامية (الشكل 8-5).

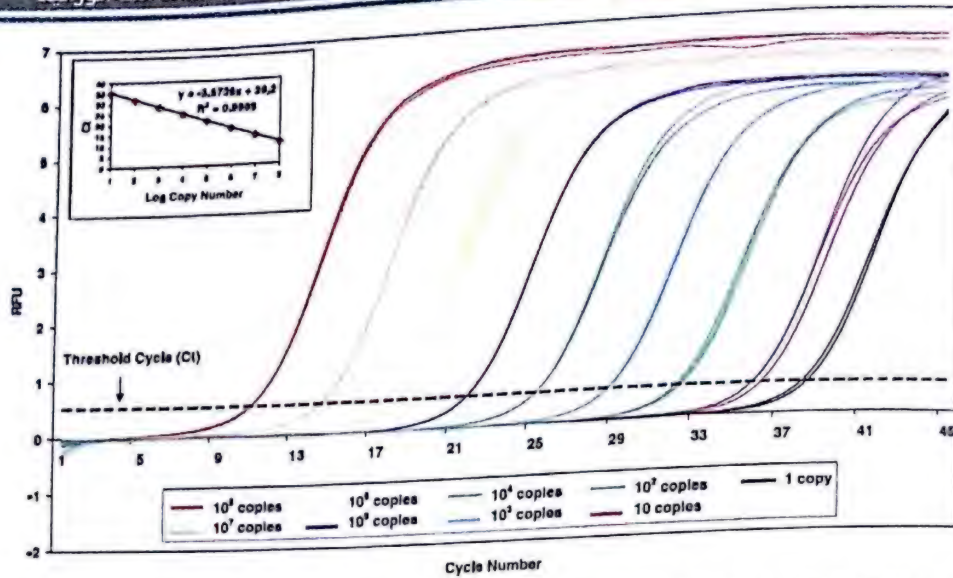


(الشكل 8-3). مراحل تشكيل الدنا المتمم ثنائي الطاق Double Strand cDNA. يتم استخلاص جزيئات الرنا الكلي من أحد أنسجة الدماغ ويبدأ تفاعل RT-PCR بارتباط عديد الثيمين بالنهاية 3' لجزيئات الرنا المرسل، ويعمل إنزيم Reverse Transcriptase على تشكيل الدنا المتمم وحيد الطاق Single Strand cDNA. بعد ذلك، يُعمل على تخريب الرنا المرسل بإضافة إنزيم RNase H ويمكن لقطع الرنا المتبقية أن تمثل مشاريع يستند عليها إنزيم بوليميراز الدنا لينسخ طاق الدنا المتمم للطاق الأول. وهكذا نحصل على طاقين للدنا المتمم.



(الشكل 4-8). الكشف عن رنا فيروس الإيدز في مصل مصاب، إذ تظهر عصابة في هلام الرحلان فقط في ناتج تضخيم عينة المريض بتفاعل RT-PCR بينما لا تظهر عصابة في العينة الشاهدة من مريض غير مصاب.

وإضافة إلى تحديد العدد البدئي لجزء دنا محدد (فيروسي أو جرثومي)، فإن من التطبيقات المهمة لتفاعل qPCR هي قياس الفرق في التعبير الجيني لجين ما في جهرتين خلويتين مختلفتين. يستخدم لذلك تفاعل RT-PCR متبوعاً بتفاعل qPCR. على سبيل المثال، يمكن بهذه الطريقة أن نحدد بدقة الفارق في التعبير الجيني لإحدى الجينات الورمية بين خلايا الثدي السليمة والسرطانية، الأمر الذي لا يمكن إجراؤه بواسطة تفاعل PCR التقليدي بسبب تراكم عدد نسخ دنا الجين الورمي بعد عدد من الدورات، الذي يجعل من الصعوبة بمكان تقدير الاختلاف في عدد النسخ الأولية للرنا المرسال الناتج عن انتساخ الجين في عينتين المقارنة. تستخدم للكشف عن نواتج التفاعل صبغات مفلورة ترتبط بجزئيات الدنا ثنائية الطاق، وتزيد شدة فلورتها بشكل طردي مع تشكيل جزئيات دنا جديدة نتيجة التضخيم. تجري المقارنة بين العينات عادةً بمقارنة ما يدعى بالدورة العتبة Threshold Cycle أو Ct، وهي الدورة التي تبدأ فيها نواتج تفاعل التضخيم بالتراكم فوق مستوى الفلورة البدئي، وترتبط Ct بشكل عكسي مع عدد النسخ البدئية للدنا. فكلما زاد عدد جزئيات الدنا البدئي، أي كانت الإصابة الفيروسية كبيرة أو التعبير عن الجين عالياً، انخفض رقم Ct (الشكل 5-8).

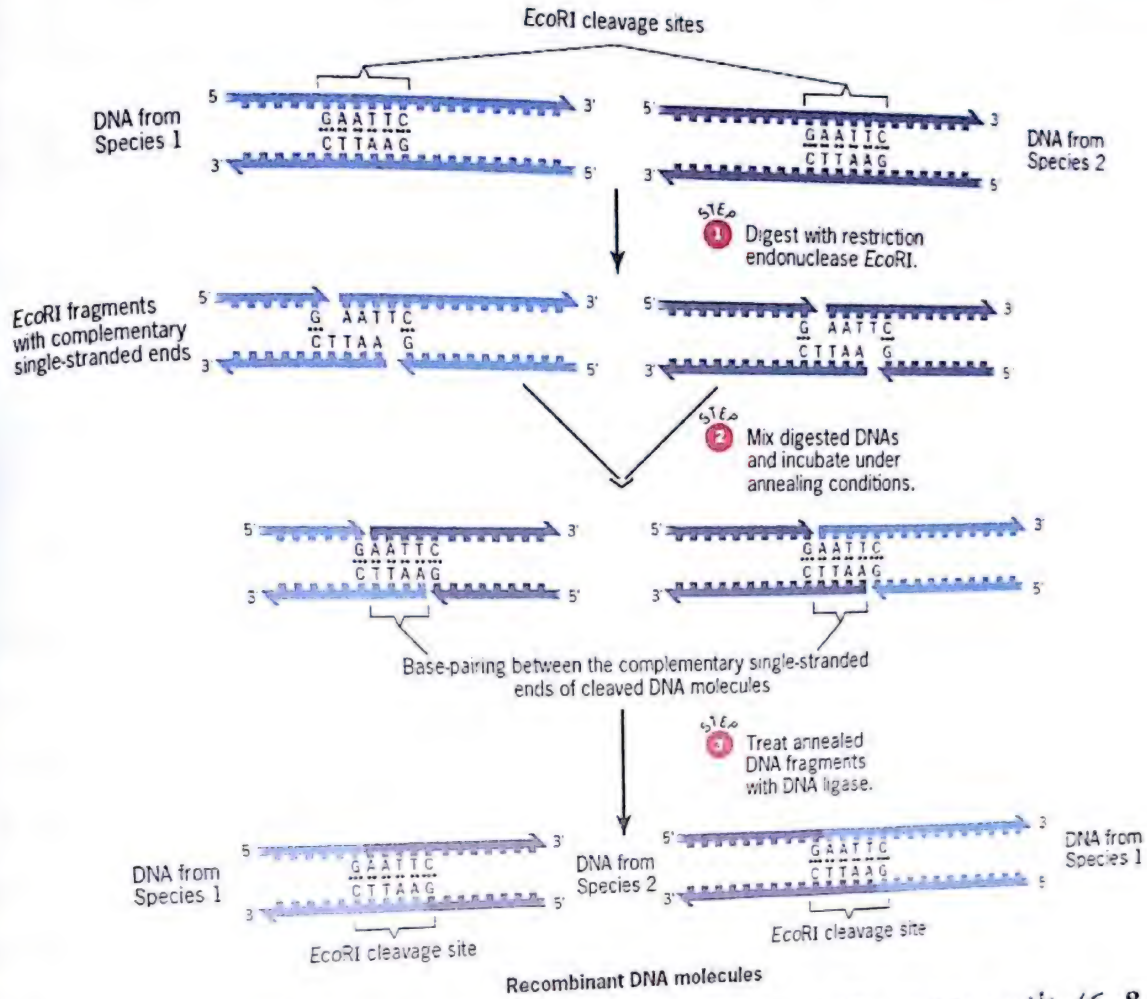


(الشكل 5-8) . نواتج تفاعل الـ PCR اللحظي والكمي. يبين الشكل عدداً من المنحنيات الناتجة عن تضخيم جزيء الدنا نفسه في عينات مَرَضِيَّة تحتوي على عدد مختلف من نسخ فيروس الكبد. يمثل محور السينات عدد دورات التضخيم ويمثل محور العينات شدة الفلورة الناتجة عن ارتباط الأصبغة المفلورة بالدنا ثنائي الطاق، أما الخط المتقطع فيمثل الدورات العتبة Cts وهي نقاط تقاطع الخط مع أي من المنحنيات. ونرى بوضوح أنه وعلى الرغم من أن نهايات التفاعلات في العينات المختلفة تكون متشابهة قليلاً (خاصة في العينات قليلة التركيز)، فإن رقم الدورات العتبة يختلف بصورة كبيرة إذ يكون صغيراً في التركيز الأعلى (نحو 11) وكبيراً في التركيز الأقل (نحو 39). ويمكن رسم منحنى عياري (الشكل الصغير في الداخل) يوضح تناقص الدورات العتبة للعينات مع تزايد عدد نسخ الفيروس.

3.8. تقانة الدنا المأشوب Recombinant DNA Technology

تعتمد تقانة الدنا المأشوب على نوع من الإنزيمات يدعى أنزيمات الاقتطاع (التقييد) Restriction Enzymes التي تُعبّر عنها الجراثيم، وتستخدمها في تحطيم أي دنا ثنائي الطاق غريب يدخل خلاياها. تتعرف إنزيمات الاقتطاع على تسلسلات دنا نوعية تدعى بمواقع التعرف Recognition Sites التي ترتبط بها إنزيمات الاقتطاع وتشطرها بشكل نوعي. على سبيل المثال، يرتبط أحد هذه الإنزيمات ويدعى EcoRI بالتسلسل النوعي GAATTC الذي يُقرأ بشكل متماثل على كل من طاقى الدنا في الاتجاه 5' إلى 3'. وإثر ارتباطه بهذا الموقع يقوم الإنزيم بشطر تسلسل الدنا بين النوكليوتيدين الأول والثاني (A و G) في كلا الطاقين مما يسبب تقطيع جزيء الدنا عند هذه النقطة (الشكل 6-8). وتستخدم الجراثيم عدداً من إنزيمات الاقتطاع التي يمتلك كل منها موقعاً نوعياً يرتبط به، ويشطر عنده جزيء الدنا ثنائي الطاق.

تقوم تقانة الدنا المأشوب على تأشيب Recombination (أو إعادة ارتباط) جزيئين مختلفين من الدنا مقطوعين بنفس إنزيم الاقتطاع، إذ ينجم عن شطر كلا الجزيئين بالإنزيم نفسه تسلسلات متكاملة يمكنها أن يرتبط بعضها ببعض بشكل متمم بتوسط الإنزيم الرابط Ligase (الشكل 6-8).



(الشكل 8-6). تأشير جزيئين مختلفين من الدنا بواسطة إنزيمات الاقتطاع. يقوم إنزيم *EcoRI* بالتعرف على تسلسله النوعي في كلا طاقى الدنا لجزيئتي دنا مختلفتين لكنهما تحتويان على التسلسل نفسه لموقع تعرف الإنزيم. إثر ذلك، يشطر إنزيم *EcoRI* طاقى الدنا لكل من الجزيئتين، كل على حدة، ومن ثم يمكن لقطعتي الدنا المشطورتين الناتجين التقارب بعضهما من بعض، ومن ثم الارتباط والالتحام بوجود إنزيم *Ligase* لينتج عن ذلك قطعتان جديدتان من الدنا المأشوب.

إن إحدى التطبيقات المهمة للتأشير هو إدخال جين محددة في بلاسميد *Plasmid* أحد الجراثيم عبر شطر تسلسل الدنا المجيني على أطراف الجين نفسها وشطر البلاسميد بنفس إنزيم الاقتطاع في أنبوب الاختبار، ومن ثم إعادة إدخال البلاسميد المأشوب الحاوي على الجين المستهدفة داخل الخلية الجرثومية. وغالباً ما يتم ذلك بهدف تضخيم الجين عبر تضاعف البلاسميد الذي يحصل بشكل طبيعي في الخلية الجرثومية، أو التعبير عن بروتين الجين المستهدفة بعد نسخ الرنا المرسال للجين المتضمنة داخل البلاسميد وترجمة الرنا المرسال داخل الخلية الجرثومية.

ولا بدّ من الإشارة هنا إلى أنه يمكن لجزيئات الدنا المشطورة أنزيم الاقتطاع أن تعاود الارتباط بعضها ببعض وبحيث لا ينتج عن ذلك دنا مأشوب. يمكن التغلب على ذلك باستخدام بلاسميدات تحتوي تتاليين اثنين:

• يرمز التتالي النوكليوتيدي الأول جين لأحد البروتينات المقاومة لنوع من الصادات الحيوية Antibiotics. ويكون الهدف من هذا التتالي منع نموأي من الجراثيم التي لم يعاد إدخال البلاسميد إلى خلاياها على أوساط نموتحتوي على الصاد الحيوي، حيث تتمكّن فقط الخلايا الجرثومية التي تلقّت البلاسميدات الحاوية على الجين المقاومة من النمو على تلك الأوساط الزرعية.

• يرمز التتالي الثاني أحد الإنزيمات التي تتواسط تحويل إحدى الركازات اللونية من الأبيض إلى الأزرق، ويحتوي على مواقع الشطر أنزيم الاقتطاع داخل هذا التتالي. في حال حصل التأشيب، تتداخل الجين المؤشبة في تسلسل الجين المولّد للون، وتكون مستعمرات الجراثيم باللون الأبيض، أما إذا عادت الجين المولدة للون وارتبطت بنفسها دون حصول التأشيب تكون مستعمرات الجراثيم باللون الأزرق (الشكل 7-8).

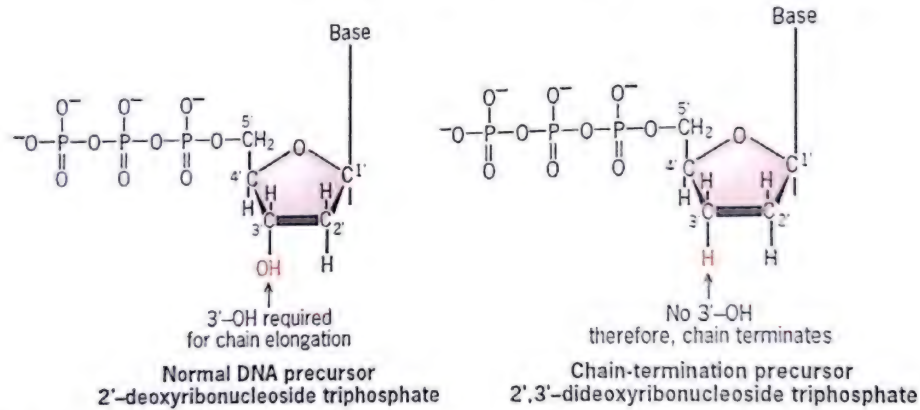
في الواقع، استخدمت تقانة الدنا المأشوب في نقل الكثير من الجينات البشرية للتعبير عنها في خلايا جرثومية أو خطوط خلوية cell-lines للحشرات والثدييات بهدف إنتاج بروتينات بشرية مأشوبة Recombinant Proteins ذات تطبيقات علاجية أو صناعية أو بحثية. والأمثلة على ذلك عديدة جداً، نذكر منها إنتاج هرمونات الإنسولين Insulin وهرمون النمو Growth Hormone والإرثروبويتين Erythropoietin المأشوبة، إضافةً للكثير جداً من الإنزيمات المأشوبة ذات الاستخدام الدوائي والصناعي.

4.8. سلسلة الدنا DNA Sequencing

يمكن اعتبار سلسلة الدنا من التقانات القديمة المتجددة. فمنذ سبعينيات القرن الماضي بزغت هذه التقانة على يد العالم الإنكليزي Frederick Sanger الذي نال جائزة نوبل في الكيمياء عام 1980، وبواسطتها يمكن تحديد جزء من التسلسل النوكليوتيدي للجين، أو كامل تسلسل الجين، أو حتى تسلسل مجين كامل، ومن ثم تكشف ما إذا كان هنالك طفرة أم لا في التسلسل النوكليوتيدي. وبدأت هذه التقانة باستخدام كواشف موسومة شعاعياً، ومن ثم تطورت في ثمانينيات القرن الماضي لتستخدم بدلاً عنها كواشف موسومة بالفلورة، واعتُبر ذلك تطوراً مهماً نظراً لصعوبات العمل مع المواد المشعة ومخلفاتها. إلا أن التطور الأهم كان فيما يطلق عليه تقانة الجيل التالي للسلسلة Next Generation Sequencing أو NGS التي بزغت في بدايات القرن الحادي والعشرين، واعتمدت على استخدام رقاقات دنا DNA Chips خاصة سمحت بتوفير الوقت بشكل مذهل.

الفوسفورية ثنائية الإستر بين النوكليوتيدات في مكان موجود منتهيات التفاعل. وسنقتصر هنا على شرح طريقة السلسلة الآلية لسانغر Sanger Automated Sequencing (الشكل 8-9). تعتمد هذه الطريقة، المعدلة على سلسلة العالم سانغر، على إضافة الكواشف التالية لمرصاف الدنا المراد تحديد تسلسله النوكليوتيدي:

- إنزيم بوليميراز الدنا DNA Polymerase
- كمية زائدة من النوكليوتيدات منقوصة الأكسجين الطبيعية dNTP (أنواعها الأربعة dATP)، dCTP، dGTP، dTTP، وهي النوكليوتيدات التي يستخدمها إنزيم بوليميراز الدنا عادة في تصنيع الطاق المتمم للدنا المرصاف.
- كمية قليلة من منتهيات التفاعل، أي نوكليوتيدات لا تحتوي على هيدروكسيل على أي من الكربونين 2' و 3' لسكر الريبوز تدعى Dideoxy NTPs أو ddNTPs، بأنواعها الأربعة (ddTTP، ddCTP، ddGTP، ddATP).
- مشرع قصير متمم للنهاية 3' للدنا المرصاف موسوم بالفلورة Fluorescence، بحيث يمكن الكشف عن جزيئات الدنا بعد تعريضها لشعاع من الليزر.



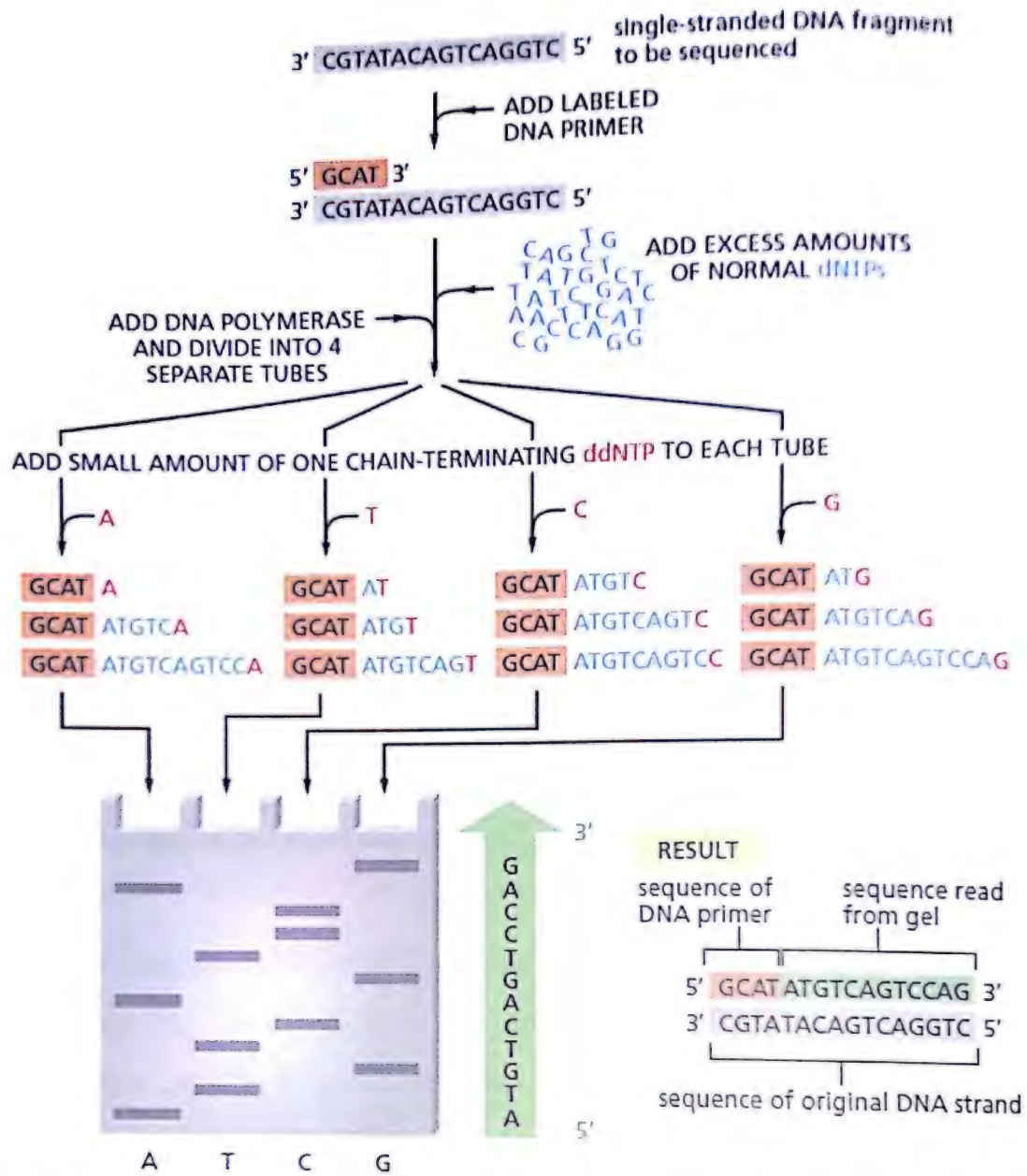
(الشكل 8-8) الفرق بين نوكليوتيد طبيعي للدنا (يسار) ونوكليوتيد منهي للتفاعل (يمين). يحتوي النوكليوتيد الطبيعي على جذر هيدروكسيل في الموقع 3' للريبوز منقوص الأكسجين، بينما يغيب الهيدروكسيل عن النوكليوتيد منهي التفاعل مما يؤدي إلى إيقاف بلمرة الدنا عند موقع ارتباط النوكليوتيد منهي التفاعل.

يضاف إنزيم بوليميراز الدنا والنوكليوتيدات الطبيعية والمشرع النوعي إلى جميع الأنابيب الأربعة التي سيتم فيها اصطناع الدنا المتمم لتسلسل -الدنا المرصاف المراد سلسلته، بينما يضاف كل من منتهيات التفاعل إلى أحد الأنابيب الأربعة فقط (الشكل 8-9). وأثناء اصطناع الدنا المتمم للدنا المرصاف يحصل تنافس بين النوكليوتيدات الطبيعية dNTPs وبين منتهيات التفاعل ddNTPs في كل أنبوب تفوز فيه غالباً النوكليوتيدات الطبيعية بسبب كميتها الزائدة بينما يتوقف التفاعل فقط في كل موقع يرتبط فيه منهي التفاعل النوعي المضاف إلى ذلك الأنبوب تحديداً. وهكذا، ومع اصطناع الدنا المتمم لكامل الدنا المرصاف، تنتج بعض القطع الأقصر من الدنا المتمم بسبب ارتباط منتهيات التفاعل في كل مرة وجدت

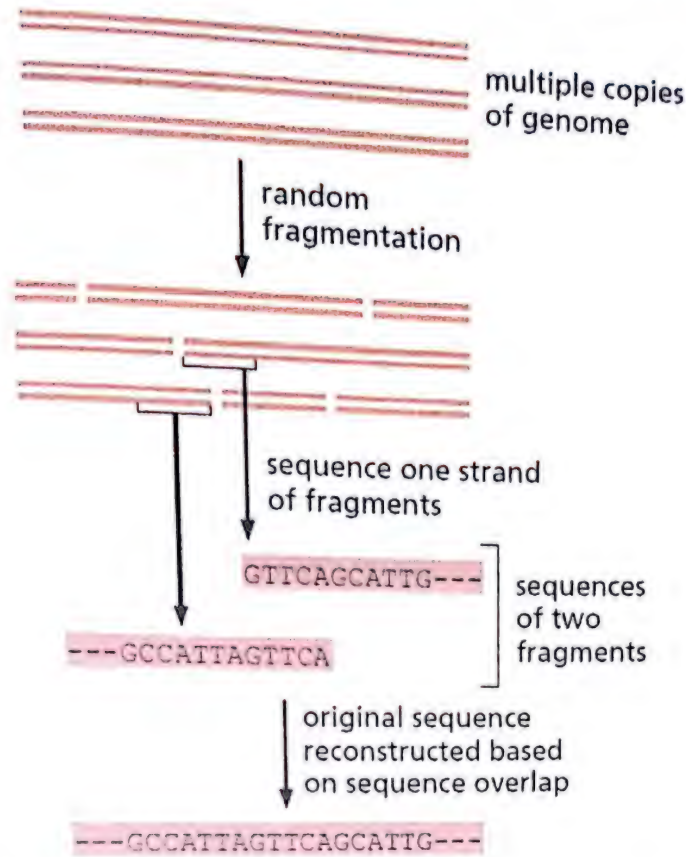
فيها النكليوتيدات المتممة لها. على سبيل المثال، نحصل في الأنبوب المضاف إليه ddATP على جزيئات دنا متمم لكامل الدنا المرصاف إضافة إلى تسلسلات دنا متمم أقصر نتجت عن ارتباط ddATP عند كل موقع احتوى فيه الدنا المرصاف على T. وبعد ترحيل نواتج التفاعل في هذا الأنبوب ضمن هلام الرحلان الكهربائي وسر الهلامة بشعاع من الليزر نحصل في العمود المقابل لكل من الأنابيب الأربعة على جزيئات دنا مفلورة يتناسب حجمها مع توقف التفاعل في موقع ارتباط ddATP، أي موقع وجود النوكليوتيد T في الدنا المرصاف.

وفي النهاية، تمكن قراءة هلامة الرحلان بدءاً من القطب الموجب (نهاية الرحلان) باتجاه القطب السالب (بداية الرحلان) في الأنابيب الأربعة ومعرفة التسلسل المتمم للدنا المرصاف واستنتاج التسلسل الأصلي للدنا المرصاف (الشكل 8-9).

مكنت طريقة سانغر الآلية السابقة من سلسلة المجين البشري وكثير من مجائن الكائنات الأخرى. وللقيام بذلك، تم شطر دنا المجين البشري إلى قطع صغيرة وتأشيب هذه القطع في البلاسميدات ونقلها إلى الجراثيم. تلا ذلك إجراء سلسلة عشوائية Shotgun Sequencing اعتمدت على مشاريع نوعية لبعض تسلسلات البلاسميدات القريبة من تتالي القطع المأشوبة داخلها، وبحيث تم تحديد التتالي النوكليوتيدي لعشرات آلاف من تلك القطع المأشوبة، ومن ثم أعيد تشكيل تتالي المجين الكامل عبر ترتيب القطع المتداخلة معروفة التسلسل (الشكل 8-10).



(الشكل 8-9) طريقة التسلسل الآلية للعالم سانغر. يضاف إلى الدنا المرصاف كمية زائدة من النوكليوتيدات منقوصة الأكسجين dNTPs ومشرع نوعي موسوم بالفلورة وإنزيم بوليميراز الدنا. ثم يضاف في كل أنبوب كمية قليلة من أحد منبهات التفاعل ddNTPs التي تتنافس مع dNTPs على الارتباط بمواقعها المتممة في جزيء الدنا المرصاف. وفي نهاية التفاعل وإجراء الرحلان الكهربائي، يمكن تمييز ظهور عصابات مفلورة متعددة تتفق مع مواقع ارتباط كل من أنواع ddNTPs الأربعة في كل أنبوب على حدة. وهكذا، نبدأ بقراءة الهلامة من الأسفل إلى الأعلى بدءاً من أصغر قطعة مفلورة، أي من حقل A إلى T إلى G إلى C إلى A إلى G، وهكذا إلى أن ينتهي التسلسل المقروء. يكون هذا التسلسل بالاتجاه 5' إلى 3' للتسلسل المتمم، ومن ثم يكون التسلسل المرصاف هو متمم له بالتتاليات النوكليوتيدية ومتعكسا بالقطبية، أي من 3' إلى 5'، كما هو مبين بالأسفل إلى اليمين.



(الشكل 8-10). سلسلة المجين البشري. اعتمدت سلسلة المجين البشري على سلسلة عشوائية Shotgun Sequencing لعشرات الآلاف من قطع المجين ومن ثم ترتيب هذه القطع اعتماداً على التتاليات النوكليوتيدية المشتركة فيما بينها. جرى عبر هذه الطريقة تحديد التتالي لما يزيد على 3 مليارات نوكليوتيد.

5.8. تقانات التهجين Hybridization Technologies

تهدف هذه التقانات إلى الكشف عن جزيئات دنا DNA أو رنا RNA أو بروتين باستعمال كواشف موسومة ترتبط نوعياً بهذه الجزيئات، بحيث تكون مسابير موسومة Labeled Probes في حالتي الدنا والرنا، وأضداداً موسومة في حال البروتينات.

وعلى الرغم من اختلافها أنواع الكواشف المستخدمة وطرق التحري، تجتمع تقانات التهجين على مبدأ ارتباط جزيئتي دنا متكاملتين في التتالي النوكليوتيدي بعضهما مع بعض، إذ يقابل الأدينين الثيمين ويقابل السيتوزين الغوانين في كامل التسلسل النوكليوتيدي، أو ارتباط ضد Antibody مع مستضد Antigen، وهوما يدعى بالتهجين Hybridization. وتبرز هنا أهمية إلفة الارتباط Binding Affinity بين الجزيئتين، الذي يرتبط بشكل مباشر مع درجة التتام النوكليوتيدي بين التسلسلين أو بين الضد والمستضد، وعلى تطبيق شروط غسل قاسية للتخفيف من الارتباطات غير النوعية بين الجزيئات ضعيفة الإلفة وغير المتتامة بشكل كلي في تسلسلاتها النوكليوتيدية.

وستنحدث في هذا السياق عن أهم هذه التقانات كتقانات التبقيع Blotting وتقانة المصفوفات الدقيقة Microarrays، وتقانة التهجين في الموضوع in situ Hybridization أو ISH، وندع للقارئ الاطلاع على تقانات أخرى عديدة مشتقة منها.

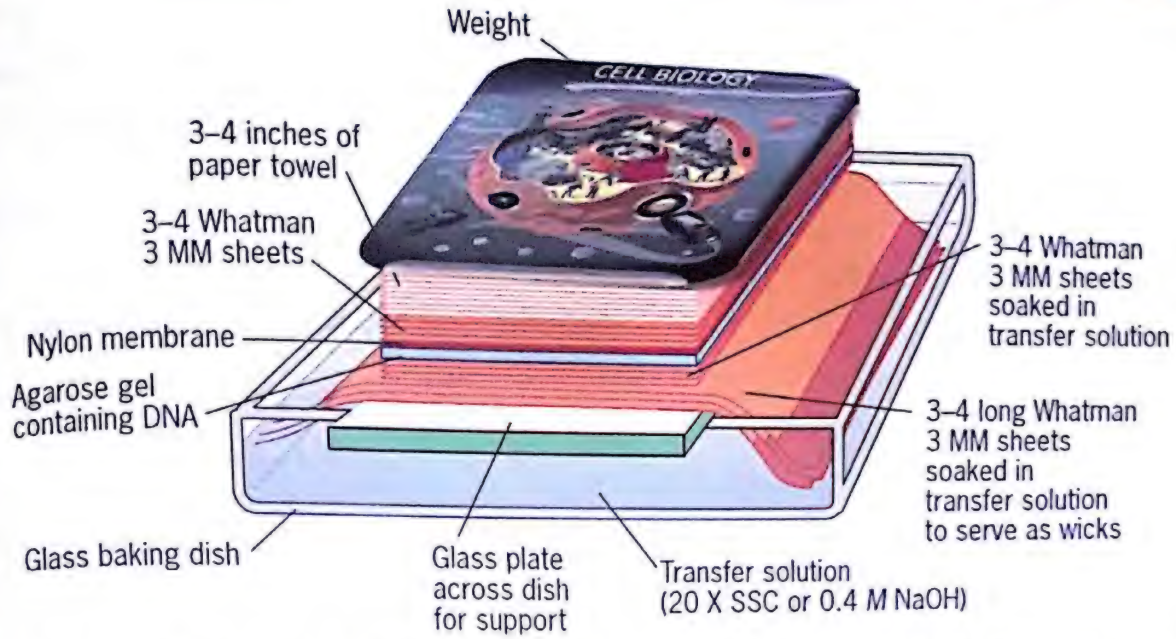
1.5.8. تقانات التبقيع Blotting Technologies

تشارك جميع تقانات التبقيع بالخطوات التالية:

1. فصل الجزيئات المراد الكشف عنها بالرحلان الكهربائي في الهلام Gel Electrophoresis.
2. نقل الجزيئات من الهلامة إلى غشاء من النايلون أو السللوز ترتبط به الجزيئات، كلّ بحسب موقعه في الهلامة وهو الخطوة الأساسية في التبقيع، إذ يترك بذلك كل جزيء بصمة في الغشاء بموقع مقابل تماماً لرحلته باتجاه القطب السالب.
3. تهجين غشاء النايلون أو السللوز مع كواشف نوعية موسومة للجزيء أو التالي المراد الكشف عنه.
4. الكشف عن إيجابية التهجين عن طريق مكشافات Detectors تتحرى إشارة الوسم في الغشاء. وللتبقيع ثلاثة أنواع تدعى بأسماء لا تخلو من الطرفة. سميت التقانة الأولى بتبقيع ساوثرن Southern Blotting التي أسسها العالم Ed Southern لكشف جزيئات الدنا وأخذت اسمه. بعد سنتين أسس العالم Alwine تقانة أخرى للتحري عن الرنا، وسماها بتبقيع نورثرن Northern Blotting، وبعد عدة سنوات أسس الباحث Burnette طريقة مماثلة لكشف البروتين أسماها بتبقيع ويسترن Western Blotting مشيراً بذلك إلى التقانيتين السابقتين وإلى مخبره الذي يقع في مدينة سياتل غرب الولايات المتحدة الأمريكية.

1.1.5.8. تبقيع ساوثرن Southern Blotting

كما أشير أعلاه، تختص هذه التقانة بالكشف عن جزيئات دنا نوعية عبر تهجينها بمسابير نوعية موسومة ومتممة لها بالتسلسلات النوكليوتيدية. لاحقاً لإجراء الرحلان الكهربائي على الأغاروز لجزيئات الدنا المشطورة جزئياً أنزيمات الاقتطاع Restriction Enzymes، يمكن نقل جزيئات الدنا من هلامة الرحلان إلى الغشاء عبر وضع الغشاء فوق وبشكل ملاصق تماماً للهلامة ووضع عدد من أوراق الترشيح تحت الهلامة، بشكل تسحب وقاء التبقيع الموجود في الحوض بالخاصة الشعرية وتنقل جزيئات الدنا، كل بحسب موقعه، إلى غشاء النايلون الذي يوجد فوقه أوراق ترشيح أخرى تزيد من سحب الوقاء وتثبيت الدنا على الغشاء. وأخيراً يوضع فوق جميع الأجزاء ثقل لتثبيت كامل منظومة التبقيع (الشكل 8-11).



(الشكل 8-11). منظومة تبقيع ساوثرن. تتألف المنظومة من وعاء يحتوي على وقاء ترتكز فيه الهلامية على صفحة زجاجية فوقها أوراق ترشيح كبيرة تصل إلى الوقاء وتمتصه وتمزقه إلى الهلامية فوقها ومن ثم إلى غشاء التبقيع. توجد فوق غشاء التبقيع أوراق ترشيح أخرى ومحارم ورقية تساعد على امتصاص وقاء التبقيع من الأسفل إلى الأعلى عبر الهلامية والغشاء مما يساهم في نقل جزيئات الدنا إلى الغشاء والتصاقها به وفي الأعلى ثقل يهدف إلى تثبيت كامل أجزاء المنظومة كي لا تسقط.

بعد الانتهاء من نقل الدنا إلى غشاء النايلون يتم حضن الغشاء مع مسبار دنا DNA Probe موسوم (قطعة دنا موسوم شبيهة بالمشارع لكنها أكبر حجماً) ونوعي للتسلسل المراد الكشف عنه ومن ثم يتم غسل الغشاء بمحاليل مختلفة التراكيز للتخلص من الارتباطات غير النوعية للمسبار على الغشاء، وأخيراً يُعرض الغشاء إلى مكشاف لتحري إشارة الوسم وتحديد موقع الدنا المرتبط بالمسبار. تمكن هذه التقنية من تحري الطفرات في الدنا باستخدام مسابير ممتمة للتسلسل الطافر ترتبط فقط به، ولا ترتبط بالتسلسل الأصلي غير الطافر. كما يمكن الكشف عن عدد نسخ الجين الناتج عن شذوذات وراثية تسبب تضاعفاً للجين ووجود عدة نسخ منها ضمن المجين الواحد (الشكل 8-12).

2.1.5.8. تبقيع نورثرن Northern Blotting

يشبه تبقيع نورثرن تبقيع ساوثرن من حيث المبدأ، ويختلف عنه فقط في أن الجزيئات المتحرى عنها هي جزيئات رنا. ويتم ترحيل الرنا على هلامية الأغاروز ونقل جزيئاته إلى غشاء النايلون، ومن ثم تهجين الغشاء مع مسابير من الدنا موسومة ونوعية لجزيء الرنا المراد الكشف عنه.

ولهذه التقنية تطبيقات مهمة في مقارنة مستوى التعبير الجيني بين الخلايا لجين أكثر أو يقل التعبير عنها في شروط معينة (الخلايا نفسها قبل وبعد الحضان مع محفز معين) أو خلايا مختلفة (خلايا طبيعية أو سرطانية) (الشكل 8-12).

3.1.5.8. تبقيع ويسترن Western Blotting

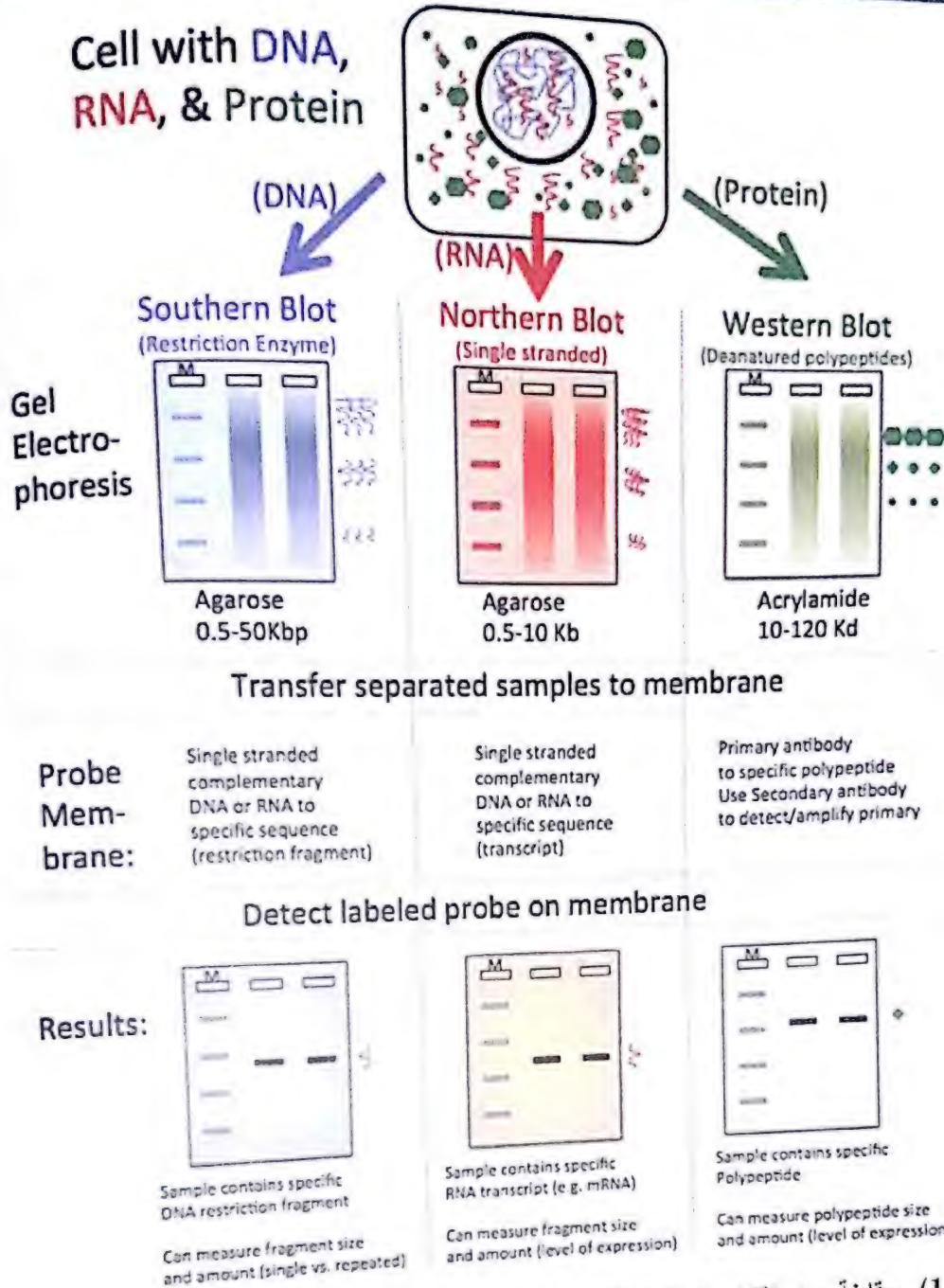
يختلف تبقيع ويسترن عن التبقيع السابقين بالأمر الأساسي التالية:

- يجري في تبقيع ويسترن ترحيل للبروتينات على هلامة أكريل أميد، إذ ترحل البروتينات وفقاً لشحنتها ووزنها الجزيئي إلى القطب الموجب للرحلان.
- يستخدم غشاء من النتروسلولوز وليس من النايلون، حيث يحقق الأول قدرة ربط عالية للبروتينات المنقولة من هلامة الرحلان إلى الغشاء.
- يجري التبقيع بالاستعانة بتيار كهربائي لنقل البروتينات من الهلامة إلى الغشاء وتثبيت البروتينات عليه، وتستخدم منظومة مختلفة عن تلك التي ذكرت في نوعي التبقيع الآخرين.
- لا يستخدم تبقيع ويسترن أي مسابير موسومة بل يجري التهجين باستخدام أعداد بروتينية موسومة ترتبط بشكل نوعي وإلفة عالية بالمستضد البروتيني المثبت على الغشاء وتكشف عن وجوده.

يستخدم تبقيع ويسترن للكشف عن وجود البروتينات في خلاصات خلايا أو نسج معينة كما يمكنه الكشف عن فعالية هذا البروتين في حال استخدمت أعداد نوعية فقط للبروتين الفعال ولا ترتبط بالبروتين غير الفعال (الشكل 8-12).

2.5.8. التهجين التآلقي في الموضع (Fluorescent *in situ* Hybridization (FISH)

يمثل التهجين في الموضع (*in situ* Hybridization (ISH) تقنية متميزة تتداخل من خلالها التقانات الحيوية الجزيئية والنسجية لدراسة التركيب والتعبير الجيني في مقاطع النسيج والمحضرات الخلوية، ويمكن بواسطتها تحديد مواقع نوعية للدنا DNA والرنا RNA في نوى الخلايا. تتضمن الطريقة تفاعل تهجين بين مسبار نوكلئوتيدي موسوم وتتالي نوكلئوتيدي هدف متم له. ويمكن تحرّي الهجن Hybrids إما بالتصوير الشعاعي الذاتي للمسابير الموسومة شعاعياً، وإما عن طريق استخدام ملونات نسيجية كيميائية للمسابير غير المشعة. وتطوّرت لاحقاً تقنيات ISH بشكل سريع في منتصف ثمانينات القرن الماضي لتصبح وسائل لا غنى عنها في البحث العلمي الأساسي والتشخيص السريري، خاصةً بعد أن مكن إدراج الوسم التآلقي غير الشعاعي في نهاية السبعينات من استخدام التهجين التآلقي في الموضع Fluorescent *in situ* Hybridization أو FISH في مخابر التشريح المرضي كوسيلة تشخيصية جزيئية وطريقة للكشف عن العوامل الممرضة كالجراثيم والفيروسات في المقاطع النسيجية.



(الشكل 8-12). مقارنة بين تقانات التتبع الثلاث. (يسار) يعتمد تتبع ساوثرن على رحلان دنا مجيني مشطور أنزيمات الاقتطاع في هلامة الأغاروز وتتبع الهلامة على غشاء ووسم الغشاء بمسابير دنا أو رنا موسومة نوعية لتسلسل الدنا المستهدف. (وسط) يعتمد تتبع نورثرن على رحلان جزيئات الرنا المستخلصة من نسيج معين في هلامة الأغاروز ووسم الغشاء بعد تتبع الرنا عليه بمسابير دنا أو رنا موسومة نوعية لتسلسل الرنا المستهدف. (يمين) يعتمد تتبع ويسترن على رحلان البروتينات في هلامة البولي أكريل أميد وتتبع البروتين على غشاء نتروسلاوز ومن ثم وسم الغشاء بأضداد نوعية للبروتين المستهدف.

تعدّ الـ FISH من حيث المبدأ تقانة مباشرة جداً تتضمن تهجين مسبار مفلور Fluorescent Probe من الدنا مع تسلسله المتمم على مستحضرات الصبغيات المثبتة مسبقاً على صفائح زجاجية. تُظهر المسابر المفلورة وجزيئاتها الهدف في الموضع باستخدام المجهر المفلور وعادةً ما تكون إشارة الوسم

المباشر أكثر قوة ونوعية. وباعتبارها تطبيقاً جزيئياً وخليوياً مشتركاً، فإن الميزة الأساسية والمحبة لتقنية FISH تكمن في قدرتها المتميزة لتزويدنا بدرجة عالية من الميز Resolution، مع الاحتفاظ بالمعلومات على مستوى الخلية الواحدة. ويمكن أن تطبق تقنية FISH في مختلف أطوار دورة الخلية Cell Cycle والاستفادة من المعلومات الناتجة عنها حسب نوع وغاية التحليل، وذلك مع الإشارة إلى أن بنية الصبغي تتغير بتغير طور الخلية، إذ تكون المادة الوراثية مسترخية وأقل تكثفاً في بداية الطور البيني interphase وخلال الطور G1، بينما تشرع بالتكثف في الطور G2 لتصل إلى أقصى درجات التكثف في بداية طور الانقسام M.

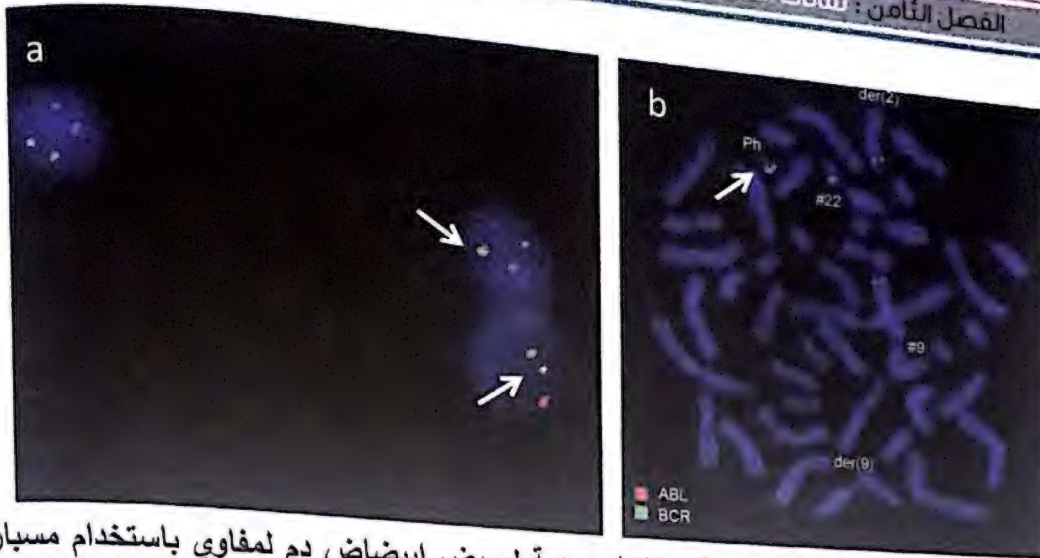
برزت تقنية الـ FISH عبر مزاجية تهجين الدنا التقليدي في المحلول مع التقنيات الجزيئية الحديثة. واستخدمت FISH في كثير من المجالات مثل تحديد نوع الصبغي، وتظهر تضخيم (تضاعف) الجين الشاذ في بعض الأورام الصلبة، وتحديد الخلايا الورمية ضمن النسيج الطبيعي. تتوافر ثلاثة أنماط رئيسية من مسابير الـ FISH:

1. المسابر الساتلة Satellites Probes، وترتبط بتسلسلات الدنا عالية التكرار قرب منطقة القسيم المركزي Centromere للصبغي.

2. مسابر التتاليات النوعية Unique-Sequence Probes، وتتحرى تتاليات نوعية من الدنا في أي موضع على طول الصبغيات وتترافق مع بعض الأمراض.

3. مسابر الرسم Painting Probes، وترتبط مع سلاسل كبيرة من التتاليات الموجودة في صبغي محدد بحيث تصبغ صبغى معين بلون فلورة خاص يميز هذا الصبغي من الصبغيات الأخرى.

إن من بين أكثر تطبيقات الـ FISH شيوعاً هو الإزفاء Translocation بين الصبغيين 9 و 22 t(9,22)، أو ما يدعى بصبغي فيلادلفيا Philadelphia Chromosome، الشائع لدى بعض مرضى ابيضاض الدم الحاد Acute Leukemia. يستخدم مسباران نوعيان لتحري ناتج اندماج جينتي BCR و ABL نتيجة الإزفاء الصبغي، يرتبط الأول بجزء من جين BCR المتوضعة على الصبغي 22 والثاني بجزء من جين ABL المتوضعة على الصبغي 9. وتمتلك الخلية الطبيعية إشارتين من الصبغي 9 وإشارتين من الصبغي 22 نتيجة وجود أليلين لكل جين على صبغى الأب والأم، بينما تُظهر الخلايا التي حصل فيها إزفاء t(9,22) إما إشارتين متجاورتين بألوان فلورة مختلفة، وإما إشارة مدمجة بلون متوسط بين اللونين. وهكذا، إذا كان مسبار BCR موسوماً بمادة الفلوروسيين الخضراء ومسبار ABL موسوماً بمادة الرودامين الحمراء، تظهر عندها إشارة صفراء تعكس اندماج اللونين الفلورين. وعادةً ما تستعمل صبغة أخرى عامّة هي DAPI التي تلون النواة أو الصبغيات ككل، وتجعل الصورة أكثر وضوحاً (الشكل 8-13).



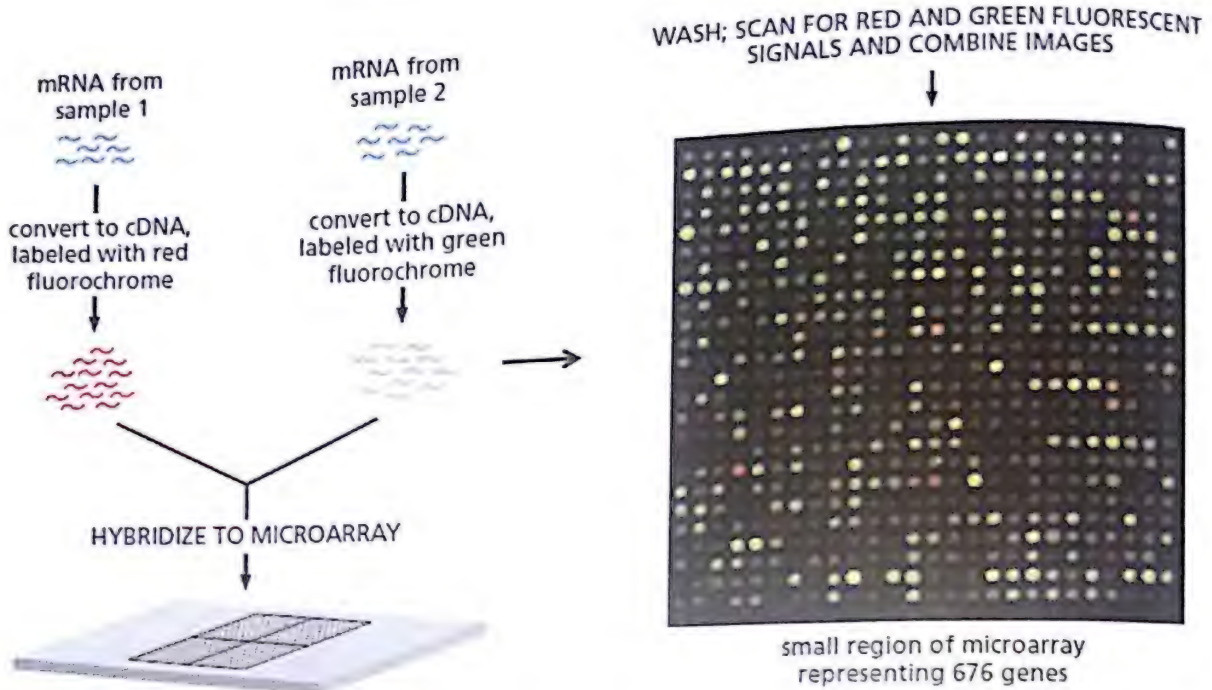
(الشكل 8-13). ويبيّن تطبيق تقانة FISH في خلايا جسمية لمريض ابيضاض دم لمفاوي باستخدام مسبارين نوعيين لجينتي *BCR* (خضراء) و *ABL* (حمراء) في خلايا دم في الطور البيني (a) Interphase وطور الانقسام mitosis (b)، على التوالي. (a إلى اليسار) خلية طبيعية تحتوي على نسختين من جين *ABL* على الصبغيين المتماثلين 9 ونسختين من جين *BCR* على الصبغيين المتماثلين 22. (a إلى اليمين) خليتان ورميتان تحتوي كل منهما على تداخل بين اللونين، يبدو باللون الأصفر (السهم) ويظهر عنده اندماج الفلورة الخضراء والحمراء عند الجين *BCR-ABL*. (b) صبغي فيلادلفيا (السهم) ويظهر عنده اندماج الفلورة الخضراء والحمراء عند الجين *BCR-ABL*.

3.5.8. المصفوفات الصغرية Microarrays

ظهرت في العقدين الأخيرين المصفوفات الصغرية Microarrays كتقانة عالية الإنتاج High Throughput تمكن من مقايضة التعبير الجيني لعدد كبير جداً من الجينات يصل إلى عدة آلاف في الآن نفسه. يعتمد أحد تنوّعات هذه التقانة على ربط كثير من شذف الدنا الخاصة بقطع من جينات مختلفة على صفائح زجاجية، وبشكل بقع صغرية Micro-Spots، ومن ثم تهجينها مع عينات مختلفة وموسومة من الدنا المتمم للرنا المرسال المستخلص من العينة المدروسة، وبلي ذلك إجراء قياس كمي لشدة الإشارة الصادرة عن جميع الشذف بما يعكس كمية الرنا المرتبطة بالتسلسلات المتممة لها والخاصة بكل جين منها.

وهكذا، يمكن تحديد التعبير الجيني للجينات المرتبطة بأحد أنواع السرطانات في عينة مريض من خلال وسم الدنا المتمم cDNA للرنا المرسال المستخلص من هذه العينة بواسم فلورة معين واستخدام cDNA متمم لرنا عياري (من شخص سليم) مرتبط بواسم فلورة آخر. يتبع ذلك تهجين عيني الدنا المتمم في نفس الوقت مع الصفيحة الحاوية على شذف الجينات المثبتة عليها، وبحيث ترتبط شذف الدنا المتمم الموسوم بشكل تنافسي مع بقع الدنا. يتم بعدها تحديد التعبير الجيني التفاضلي Differential Gene Expression لجينات معينة بعد تحديد كمية الواسمات المرتبطة في كل بقعة على الصفيحة، التي تمثل إحدى تلك الجينات (الشكل 8-14). تجري اليوم دراسة التبدلات في التعبير الجيني لعدد كبير من الجينات وربط ذلك مع أمراض عديدة ومتنوعة كالسرطانات والملتازمات المختلفة. وأخيراً، تجدر الإشارة

أن تقانة المصفوفات الصغيرة قد توسعت حديثاً لتشمل مصفوفات البروتينات Protein Arrays ومصفوفات النسيج Tissue Arrays إذ تختلف هذه التقانات بعضها عن بعض بنوع العينة المرتبطة بالصفائح وبنوع الكواشف المستخدمة، التي عادة ما تكون أضداداً موسومة.



(الشكل 8-14). مصفوفة دنا مكروية تبين اختلاف التعبير الجيني للجينات الممثلة على الصفحة. يتم رسم الدنا المتمم cDNA لعينتين من الرنا المرسل (مثلاً عينة عيارية 1 بواسم أخضر وعينة مريض 2 بواسم أحمر). تمثل النقاط الحمراء (إلى اليمين) توضع الجينات ذات التعبير المرتفع في عينة المريض بينما تمثل النقاط الخضراء تلك التي قلّ التعبير عنها في عينة المريض. تمثل النقاط الصفراء الجينات التي لم يختلف التعبير عنها بين عينة المريض والعينة العيارية.

6.8. التشخيص الجزيئي للأمراض الوراثية

Molecular Diagnosis of Genetic Diseases

يشير مصطلح التشخيص الجزيئي Molecular Diagnostics إلى الاختبارات التي تستخدم لتحديد مرض، أو الأهبة للمرض، عن طريق تحليل الدنا DNA أو الرنا RNA أو البروتين. ويضم هذا المجال الاختبارات والأجهزة والكواشف المستخدمة في المستشفيات ومخابر التحاليل والمخابر المرجعية ومراكز الأبحاث بهدف تشخيص ومتابعة سير المرض. وقد تطور التشخيص الجزيئي الطبي بشكل كبير في العقد الماضي، وأضحى من المجالات الأكثر نمواً من إذ حجم الاستثمارات وفرص التوظيف. وبشكل جلي، فقد أتى هذا الازدهار نتيجة المعرفة المتراكمة في العقدين الماضيين والمتعلقة بالمجين البشري والجينات والبروتينات، التي شكّلت أساس دراسة الأمراض على المستوى الجزيئي. وتطلب تطوير

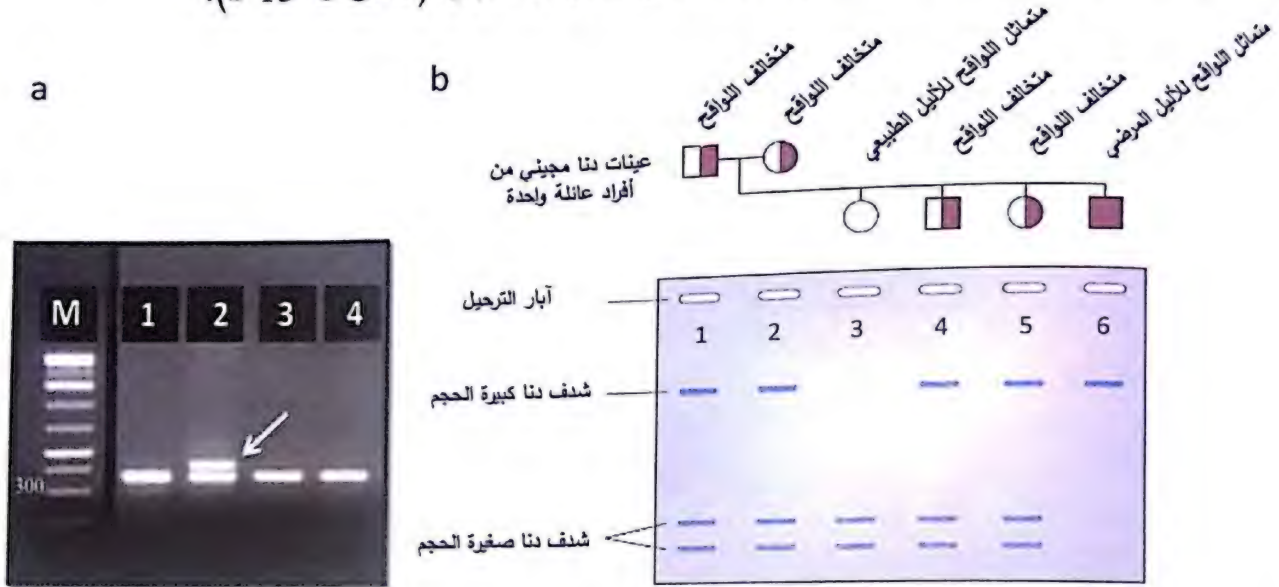
التشخيص الجزيئي تازراً بين أخصائيي البيولوجيا الجزيئية والكيمياء التحليلية والمعلوماتية الحيوية والهندسة الطبية لفهم الآليات الجزيئية وترجمة هذا المعرفة إلى اختبارات تطبيقية ملائمة ومفيدة. يعتمد تشخيص الأمراض الوراثية على حزمة من الوسائل المتكاملة تبدأ بالقصة العائلية والموجودات السريرية لدى المرضى، وتمر ببعض الفحوص المخبرية الأولية التي تكشف عن الاضطراب الحاصل في الواسمات الحيوية Biomarkers (الجزيئات التي ترتفع أو تنخفض تراكيزها في الدم أو النسيج) المرافقة للخلل الوظيفي وتقدير الفعالية الإنزيمية النوعية للمرض، انتهاءً بالتشخيص الجزيئي الذي قد يسهم في تحديد آليات المرض. ويضمّ هذا الأخير تحاليل متغايرة كالنمط النووي Karyotyping للصبغيات والوسائل المتعددة لكشف الطفرات والتطبيقات المختلفة لتضخيم الدنا DNA amplification بتفاعل البوليميراز التسلسلي التقليدي أو اللحظي. ويبدو التشخيص الجزيئي أكثر تلك الوسائل حساسيةً لكشف الأمراض الوراثية، ويمكن بذلك من الكشف المبكر عن الخلل الجزيئي، مما يسهم باتخاذ القرار العلاجي السليم ربما قبل ظهور الأعراض السريرية لدى المرضى. تضم الشذوذات الجزيئية التي يمكن الكشف عنها بوسائل التشخيص الجزيئي كل أنواع الطفرات Mutations والتعدد الشكلي وحيد النوكليوتيد Single Nucleotide Polymorphisms أو SNPs إضافةً إلى الشذوذات الصبغية (أنظر الفصلين التاسع والعاشر).

يمكن عموماً تحري وجود الطفرات عبر تقانة السلسلة وتقانات التهجين المختلفة. وقد سيطرت منذ منتصف القرن الماضي تقانات قديمة من أمثالها تبقيع ساوثرن وتبقيع نورثرن لكشف الطفرات ومقايصة التعبير الجيني، إلا أن كلتا التقانتين تستهلك وقتاً وجهداً طويلاً، واستبدلتا حديثاً بكثير من التقنيات العصرية المتطورة. وسنتطرق هنا إلى أشهر تلك التقانات الجزيئية المعاصرة Modern Molecular Technologies التي ساهمت في تطوّر حقّ التشخيص الجزيئي منذ أواخر القرن العشرين حتى الآن، وعلى الأخصّ في كشف وتحديد نوع الطفرات في كثير من الأمراض الوراثية وتمييز حالات تماثل وتخالف اللواقح.

1.6.8. كشف وجود الطفرات عن طريق المعاملة الإنزيمية لنواتج تفاعل الـ PCR

إنّ من أهمّ التطبيقات المباشرة لتفاعل الـ PCR هو تمييز التغيّر في طول نواتج التفاعل نتيجة طفرات الإقحام Insertion أو الخبن Deletion، إذ تبدو قطع الدنا المضخّمة إما أقصر أو أطول من الطول المتوقع لشدة الدنا (الشكل 8-15 a). إلا أنّ هذا التطبيق يكون غالباً ذا فائدة فقط إذا كان عدد النوكليوتيدات المضافة أو المحذوفة كبيراً، خاصّة عند استخدام هلامة الآغاروز ضعيفة الفصل أو الميّر في الرحلان الكهربائي. ولأجل ذلك، أدخل لاحقاً تعديل مهم باستخدام إنزيمات القطع التي تشطر الدنا عند مواقع تعرّف نوعية (أنظر أعلاه) مما ينتج عنه عدد من شدة الدنا تساوي عدد مواقع التعرّف زائداً واحداً. على سبيل المثال، إذا كان هنالك موقع تعرّف واحد في ناتج الـ PCR تنتج شدة دنتان للدنا، وهكذا.

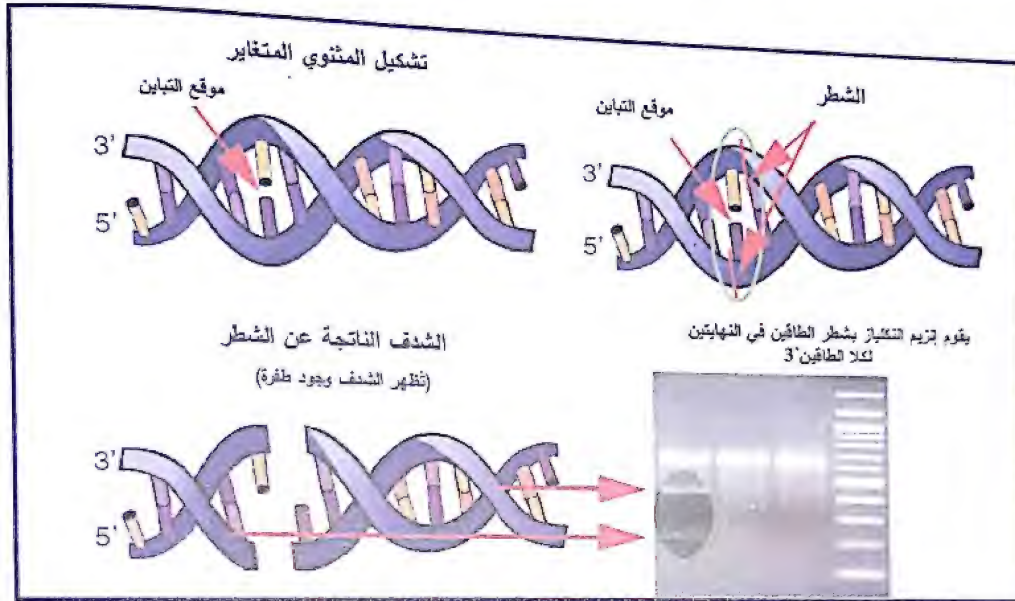
وتؤدي بعض طفرات الدنا إلى إلغاء موقع التعرف أو إلى إضافة موقع تعرف جديد مما ينجم عنه اختلاف في قدرة إنزيم التقيد على قطع تسلسل الدنا التابع لعينة سليمة ومرضية. ونميز هنا حالتين متمائل ومتخالف الألائل Homo- or Heterozygote، إذ يمكن تفريق تلك الحالتين بعضهما عن بعض أولاً بتضخيم تسلسل الدنا المراد اختباره بواسطة تفاعل الـ PCR، ومن ثم هضم قطعة الدنا المضخمة أنزيم اقتطاع نوعي لموقع التعرف المتضمن مكان وجود الطفرة المحتملة، ثم ترحيل عينات الدنا بعد الهضم وتمييز ما إذا كان التتالي النوكليوتيدي طافراً أو طبيعياً (الشكل 8-15 b).



(الشكل 8-15). ويبين بعض تطبيقات تفاعل الـ PCR في الكشف عن الطفرات. (a) صورة رحلان كهربائي لنواتج تفاعل PCR مباشر لثلاثة مرضى (1-3) من مرضى ابيضاض دم حاد بالمقارنة مع عينة لفرد سليم (4). تظهر نتيجة الرحلان الكهربائي وجود عصابة واحدة في العينات 1 و 3 و 4، وعصابتين لدى عينة مريض (2) بسبب وجود طفرة إضافة Insertion Mutation في أحد أليلي الجين الطافرة لدى المريض. (b) رسم تخطيطي لرحلان كهربائي لنواتج تفاعل PCR بعد هضم القطع المضخمة بأحد إنزيمات القطع الذي يتأثر عمله بوجود طفرة في تتالي موقع التعرف النوعي له. وتظهر في الأعمدة (1، 2، 4، 5) نواتج تعكس حالة متخالف الألائل (الواقف) لدى أفراد العائلة، حيث تمكن إنزيم القطع من قطع تسلسل الأليل الطبيعي منتجاً الشداف صغيرة الحجم، بينما لم يتمكن من قطع تسلسل الأليل الطافر بسبب وجود الطفرة التي ألغت موقع التعرف. وتظهر في العمود 3 حالة متمائل الألائل الطبيعية، بينما تظهر في العمود 6 حالة متمائل الألائل المرضية.

يمكن أيضاً استخدام إنزيمات أخرى غير نوعية كإنزيم النكلياز Nuclease يقوم بشطر لا نوعي وغير مرتبط بتسلسل نوكليوتيدي محدد لطاقي الدنا في حال وجود تباين أو عدم تكامل Mismatch في أزواج النوكليوتيدات، كما يحصل في حالات تغاير الألائل Heterozygosity. من أجل ذلك، يُضخَّم التسلسل المستهدف في كلا الأليلين، والطافر، ثم تعرض نواتج الـ PCR إلى حرارة عالية متبوعة بالتبريد لينجم عن ذلك فك وإعادة ارتباط طاقي الدنا المتكاملين بعضهما مع بعض. إلا أن قسماً من القطع المعاد

ارتباطها تتكوّن من مثنويات متغايرة Hetero-duplexes تحتوي على عدم تكامل في موقع الطفرة بين النوكليوتيدين المتقابلين نتيجة ارتباط طاق من الأليل الطبيعي مع المكمل له من الأليل الطافر. يقوم بعد ذلك إنزيم النكلياز بشطر المثنويات المتغايرة. وتظهر القطع المشطورة بشكل عصابات صغيرة الحجم على هلام الرحلان الكهربائي (الشكل 8-16)، ليدلّ وجودها على طفرة في أحد الأليلين، بينما يظهر الدنا متمائل الألائل سواءً بالنسبة للأليل الطبيعي أو الطافر على شكل عصابة واحدة.



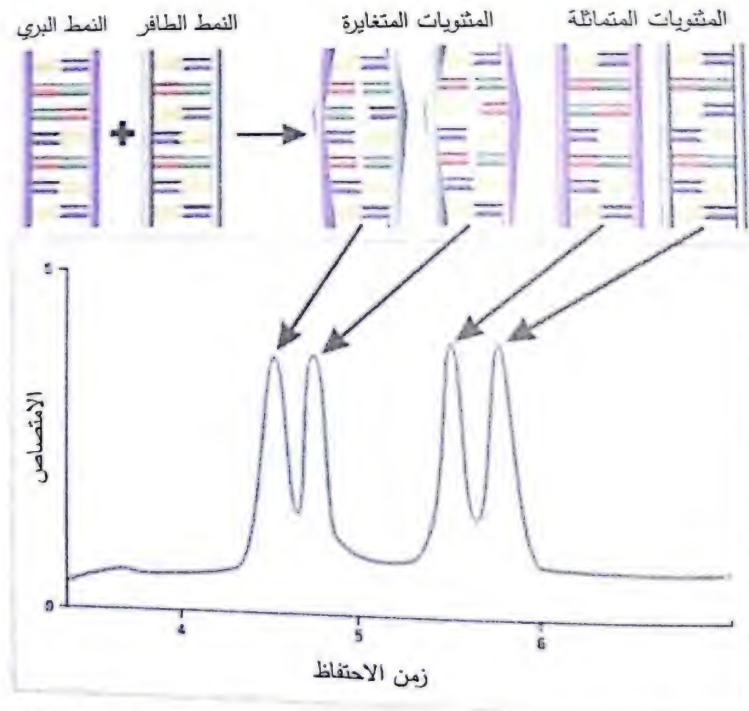
(الشكل 8-16). كشف الطفرات متغايرة الألائل عن طريق القطع بإنزيم النكلياز. تُضخَّم قطع الدنا بتفاعل الـ PCR ثم تعرّض نواتج التفاعل إلى درجة حرارة مرتفعة ثم منخفضة ل فك وإعادة ارتباط طاقّي الدنا. في حال وجود طفرة في أحد الأليلين فقط (حالة متغاير الألائل) تتشكّل المثنويات المتغايرة التي تُستهدف من قبل إنزيم النكلياز في موقع الطفرة ويسبب ذلك عدم التتام بين الزوج النوكليوتيدي المتقابل. ويقوم الإنزيم بشطر الدنا في موقع المثنويات المتغايرة فقط لتنتج جزيئات دنا ذات حجوم أصغر من حجم عصابة الدنا الأساسية الممثلة لنواتج تضخيم الدنا، بينما تظهر المثنويات المتماثلة سواءً للنمط البري (الطبيعي) أو الطافر على هلام الرحلان كعصابة واحدة فقط لأنها لا تُستهدف من قبل إنزيم النكلياز.

2.6.8. كشف وجود الطفرات باستخدام تقنية dHPLC

جرى في العقد الماضي تطوّر مهم في فصل نواتج تضخيم الدنا والحصول على تقانات ذات ميز عال جداً تسمح بالكشف عن استبدال نوكليوتيدي واحد، ودون الحاجة للمعاملة أنزيمات الاقتطاع أو النكلياز. وقد سمحت تقنية الاستشراب اللوني السائل رفيع الإنجاز الممسّخ Denaturing High Performance Liquid Chromatography (dHPLC) أو بتحسين قدرة الفصل بين المثنويات المتغايرة المتشكّلة في حالة تغاير اللواقح للطفرات. وتعتمد هذه التقنية على اختلاف التآثر بين جزيئات الدنا المثنوية المتماثلة Homo-duplexes والمتغايرة Hetero-duplexes مع الطور الثابت في عمود الـ HPLC. ويُستخدم في هذه التقنية طوران؛ الأول ثابت Stationary، ويتكوّن عادةً من مادة البوليسيتيرين، والآخر متحرّك

Mobile يحتوي مادة الأسيتونتريل ومادة TEAA التي تساعد على ربط الدنا مع الطور الثابت داخل عمود الاستشراب. في ظروف غير ممسّخة Non-denaturing، وباستخدام حرارة أقل من 50 °م، تُشطف قطع الدنا تبعاً لحجمها إذ تخرج من عمود HPLC أولاً القطع صغيرة الوزن الجزيئي بينما تتميز القطع الأكبر حجماً بزمان احتفاظ Retention Time أطول في عمود HPLC قبل شطفها خارجة كونها تبقى مرتبطة بالطور الثابت. أما في ظروف ممسّخة جزئياً Partially Denaturing، فيمكن حتى التمييز بين قطعتي دنا لهما الحجم نفسه لكن يختلف بعضهما عن بعض بزواج نوكلوتيدي واحد نتيجة إحدى طفرات الاستبدال.

تتضمن خطوات العمل إجراء تفاعل الـ PCR كما السابق، متبوعة بصهر منتجات التفاعل عند درجات حرارة مرتفعة ثم إعادة ارتباطها عند درجات منخفضة إذ تتشكل وفقاً لذلك مثنويات متماثلة تضم إما طاقين سليمين أو طاقين طافرين، إضافةً إلى مثنويات متغايرة تضم طاقاً سليماً وآخر طافراً. تتشكل في المثنويات المتغايرة فقاعات Bubbles ناجمة عن ابتعاد طاقي الدنا المتغايرين في موقع وجود النوكليوتيد الطافر، إذ لا تتشكل روابط هيدروجينية بين النوكليوتيدات غير المتكاملة، ويؤدي ذلك إلى خفض عدد الشحنات اللازمة للتأثر مع الطور الثابت، ومن ثم شطف المثنويات المتغايرة بوقت أقل من المثنويات المتماثلة (الشكل 8-17). زيادةً على ذلك، يمكن التمييز بين قمتين للمثنويات المتماثلة أو المتغايرة، تمثل كل منها أحد احتمالي الزوج النوكليوتيدي المتشكل في مكان الطفرة النقطية، الذي ينعكس بالاختلاف في قدرة ارتباط المثنويات مع الطور الثابت.



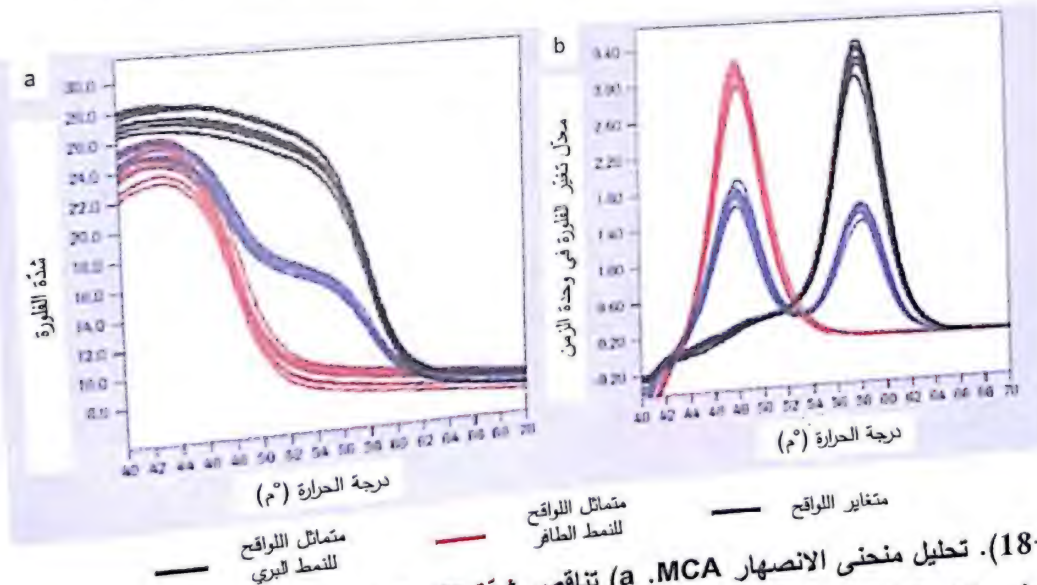
(الشكل 8-17). رسم تخطيطي يوضح استخدام تقنية dHPLC في كشف وفصل المثنويات المتماثلة والمتغايرة الناجمة عن الطفرات النقطية، إذ تُشطف المثنويات المتغايرة أولاً، تتبعها المثنويات المتماثلة، ويظهر نوعا المثنويات

بشكل قمتين لكل منهما تمثلان احتمالي زوج المثنويات (لاحظ النوكليوتيد الثالث من الأعلى). ويكشف عن قطع الدنا عند شطفها وخروجها من العمود بمقايضة الزيادة في الامتصاص الضوئي للدنا.

3.6.8. كشف وجود الطفرات عن طريق تحليل منحنى الانصهار

Melting Curve Analysis (MCA)

يمكن تفاعل الـ PCR اللحظي والكمي qPCR من كشف الطفرات عن طريق إجراء تفاعل الـ PCR بوجود إحدى الصبغات المفلورة Fluorescent Dyes، مثل SYBRgreen و EVAgreen، التي تعطي فلورة فقط عند ارتباطها بنواتج الـ PCR ثنائية الطاق، ومن ثم تعريض تلك النواتج إلى درجات حرارة متزايدة للكشف اللحظي عن انفصال طاقي الدنا وتحويله إلى أحادي الطاق، الذي يترافق مع انخفاض حاد في شدة الفلورة يمكن تحريره باستخدام ليزرات خاصة. وينجم عن التغير في شدة الفلورة مع الزمن ما يدعى منحنى الانصهار Melting Curve الذي يختلف بحسب التركيب النوكليوتيدي لجزيئات الدنا، ومن ثم يمكنه الكشف عن وجود الطفرات التي غالباً ما تؤثر في شكل منحنى الانصهار. وتعرف نقطة الانصهار Melting Point بدرجة الحرارة التي تكون عندها نصف جزيئة الدنا ثنائية الطاق ونصفها الآخر أحادي الطاق. ويمكن أن نميز نقاط انصهار مختلفة لكل من متمائل اللواقح للنمط البري Wild Type والنمط الطافر Mutant Type، بينما تظهر للنمط متغاير الألائل نقطتا انصهار تتناسبان مع نقطتي انصهار كل من النمطين البري والطافر (الشكل 8-18 a و b). وهكذا، يمكن بواسطة هذه التقنية الكشف عن وجود الطفرة والتمييز بين النمطين المتمائل أو المتخالف للأليل الطافر.



(الشكل 8-18). تحليل منحنى الانصهار MCA. (a) تناقص شدة الفلورة مع ازدياد درجة الحرارة، ويمكن تمييز ثلاثة أشكال للمنحنى؛ شكل النمط البري متمائل اللواقح، وشكل النمط الطافر متمائل اللواقح، وشكل النمط متغاير اللواقح (عند وجود أليل سليم وأليل طافر لدى الشخص). (b) تختلف نقطة انصهار جزيئات الدنا (درجة الحرارة عند قمة كل

منحنى) تبعاً لوجود أو غياب الطفرة، إذ يمكن أن نُميّز نقطة انصهار للنمط البري تقارب 58 °م، ونقطة انصهار للنمط الطافر تقارب 48 °م، بينما تظهر في العينات متغايرة اللواقح قمتان تعكسان وجود كل من الأليلين البري والطافر.

والجدير بالذكر أنه يتوجب في كل التقانات السابق ذكرها استخدام دنا مرجعي، من النمطين البري أو الطافر، يمكن تضخيمه وكشفه ومقارنته مع نتائج العينات المراد تحليلها وتحليل الطفرات فيها. من جهة أخرى، يكون تأثير طفرات الاستبدال على جميع التقنيات السابقة أقل من تأثير طفرات الحذف والإضافة، مما يجعل من الصعوبة الكشف عن طفرات الاستبدال النقطية Point Mutations إلا باستخدام تقنيات عالية الميز كالتّي ذكرت آنفاً. وأخيراً، لا بدّ أن نذكر أن جميع التقنيات السابقة تسمح بالكشف عن وجود الطفرات لكنها لا تمكّن بالضرورة من تحديد نوع النوكليوتيدات التي استبدلت أو أضيفت أو حُذفت من جزيئة الدنا، التي يلجأ لتحديدّها إلى اتّباع تقنيات أخرى من أهمّها تقنيات التهجين وسلسلة الدنا.

7.8. المعالجة الجينية Gene Therapy

توازياً مع التقدّم الكبير في التقانات الجزيئية وانعكاسها على تطوير تشخيص الأمراض، بدا أن حلم الإنسان القديم بتغيير تكوينه الجزيئي واختيار بعض الصفات المحببة والابتعاد عن تلك المسيبة للأمراض يمكن أن يتحقّق. وتضافرت لذلك جهود مئات المجموعات البحثية حول العالم للبحث في احتمال شفاء الأمراض الوراثية ليس عن طريق معالجة الأعراض وحسب، بل في تصحيح الخلل الجيني نفسه عن طريق استبدال الجين الفاقدة لوظيفتها نتيجة الطفرات بجين سليمة تُعيد للإنسان النمط الظاهري السليم. وسنذكر في ما يلي بعض الأمثلة عن المعالجات الجينية Gene Therapies.

بدأت أولى محاولات إدخال الجينات الفعالة إلى جسم المرضى في الثمانينيات من القرن الماضي لعلاج أطفال مصابين بعوز مناعي مترافق وشديد Severe Combined Immunodeficiency أو اختصاراً SCID. ينجم هذا النمط من العوز المناعي عن غياب فعالية إنزيم Adenosine Deaminase أو ADA الضروري لعملية نضج كل من اللبافويات التائية والبائية في الغدة السعترية ونقي العظم. وينجم عن العوز في ADA غياب فعالية الجملة المناعية لدى المريض بذراعيها الخلوي Cellular والخلطي Humoral (أنظر الفصل الثاني عشر)، مؤدياً إلى سهولة تعرّض المريض لإنتانات فيروسية وجراثومية شديدة تكون قاتلة في معظم الأحيان. أدخلت جين ADA السليمة في مجين أحد الفيروسات القهقرية Retroviruses وتمّ إعداء عدد من المرضى الأطفال بالفيروس المعدّل جينياً. وبعد عدة أشهر ظهرت النتائج المشجعة جداً أن معظم الأطفال المعالجين قد تحسّنت الاستجابة المناعية لديهم تجاه العوامل المرضية. وبدا أن حقن المعالجة الجينية آخذٌ بالازدهار. لكن بعد أقل من سنة تطوّر لدى عدد من الأطفال ابيضاضات دم سرطانية اتضح فيما بعد أن معظمها نتج عن انغراس مجين الفيروس القهقري بقرب بعض الجينات المولدة للورم Oncogenes في مجائن المرضى وتفعيلها لتلك الجينات، الأمر

الذي أدى إلى تطور السرطانات لديهم. كان ذلك ضربة شديدة لحقل المعالجة الجينية وتوقفت الكثير من الأبحاث إثر ذلك، لكنها استعادت ألقها بعد عقد من الزمن نتيجة الفعالية المتميزة التي أظهرتها.

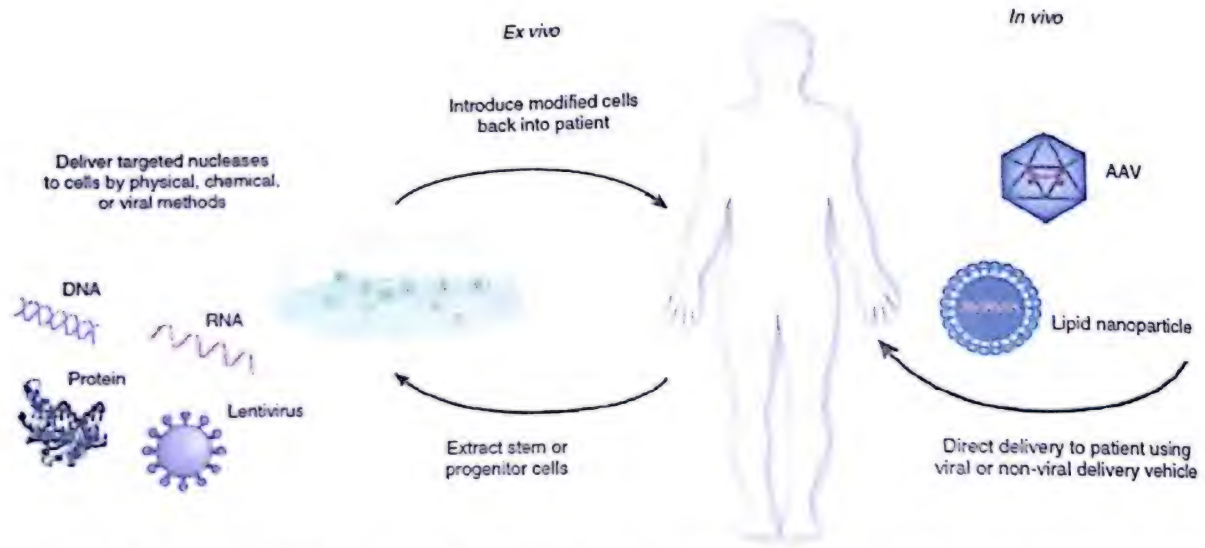
المعالجات الجينية في الكثير من الدراسات السريرية على مرضى مصابين بأعواز جينية مختلفة. من أهم الأمراض الوراثية التي تستهدف اليوم بالمعالجات الجينية هي التليف الكيسي Cystic Fibrosis، والحنث العضلي Muscular Dystrophy والناعور Hemophilia والعَمى الخُلقي Congenital Blindness. إضافةً لذلك، تستهدف المعالجة الجينية بعض الأمراض المكتسبة Acquired Diseases كالسرطان Cancer والأمراض التنكسية العصبية Neurodegenerative Diseases والإيدز AIDS والتهاب الكبد Hepatitis.

ويمكن تقسيم العلاجات الجينية إلى قسمين اثنين (الشكل 8-19):

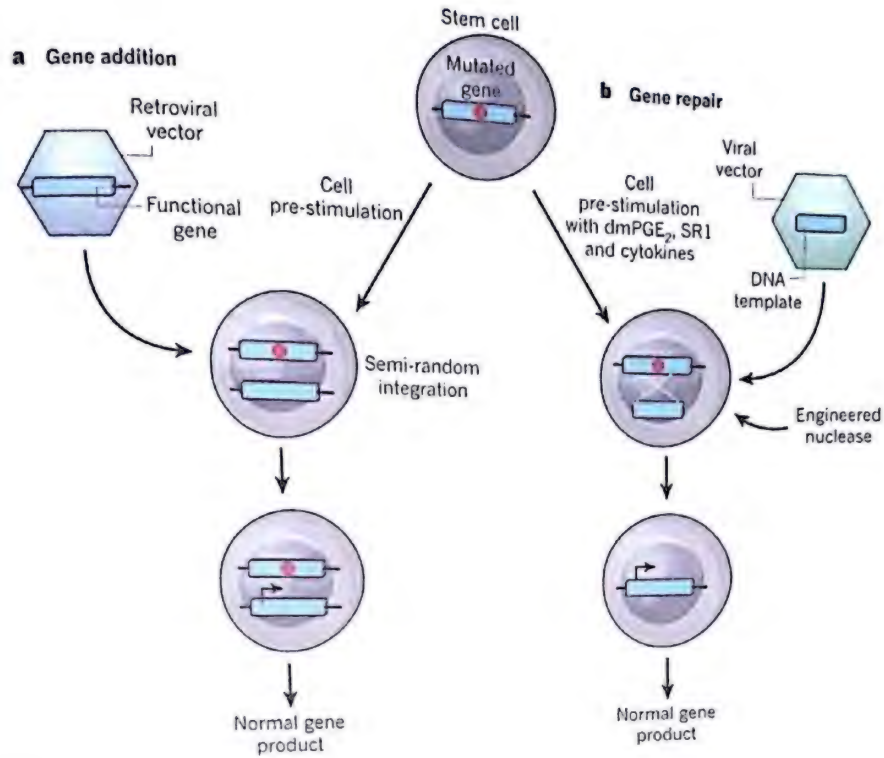
- المعالجة الجينية داخل العضوية in vivo Gene Therapy: ويجري خلالها حقن مباشر لجسيمات الفيروس المعدّل جينياً ضمن الكائن الحي الذي يُعدي الخلايا بشكل مباشر، ويجري التعبير عن الجين المنقولة ضمن الخلايا المستهدفة بالفيروس. على سبيل المثال، جرى حقن الفيروس المرافق للفيروس الغدي Adeno-Associated Virus الحامل لجين عامل التخثر التاسع في الوريد الكبدي البابي Hepatic Portal Vein لدى عدد من مرضى الناعور ب، حيث اقتيدت جسيمات الفيروس مباشرة إلى خلايا الكبد، وأعدت الخلايا الكبدية التي شرعت بعد ذلك بأسابيع قليلة بالتعبير عن العامل التاسع وتصحيح العوز في هذا العامل لدى المرضى.
- المعالجة الجينية خارج العضوية ex vivo Gene Therapy: تتضمن هذه الطريقة إخراج خلايا محددة من المريض وإكثارها في المختبر ومن ثم إعادتها بالفيروس المعدّل جينياً ومن ثم إعادة الخلايا المعدلة جينياً إلى المريض التي تقوم بالتعبير عن الجين المُدخلة داخل العضوية. جرى في هذا الصدد الحصول على الخلايا الجذعية المولدة للدم Hematopoietic Stem Cells أو HSCs من دم مرضى SCID (السابق ذكرهم) بعد تحريض انتقالها من نقي العظام إلى الدم، وأعدت هذه الخلايا بفيروس قهقري حاو على جين ADA، ومن ثم أعيدت إلى دم المرضى. استوطنت الخلايا المحقونة مرة أخرى نقي العظام لدى المرضى وشرعت بالتعبير عن الجين مما أدى إلى تحسّن واضح في فعالية الجملة المناعية لديهم. في الواقع، هنالك كثير من قصص النجاح المثيرة للمعالجة الجينية خارج العضوية. من بين تلك؛ التعديل الجيني خارج العضوية للخلايا التائية المساعدة Helper T Cells التي يستهدفها فيروس الإيدز، بحيث تُغيّر الخلية. وبذلك يمكن استخراج الخلايا التائية المساعدة للمريض وتعديلها جينياً وإعادتها إليه بحيث لا يتمكن الفيروس من إعادتها حتى ولو كان متوافراً بتركيز عالية في مصل المريض. ومن الأمثلة الممتعة أيضاً استخراج بعض الخلايا السرطانية من جسم المريض وتعديلها جينياً بحيث

تعبّر عن أحد عوامل النمو للخلايا التائية التي تكون مسؤولة عن القضاء على خلايا الورم. وهكذا، وبعد إعادة الخلايا السرطانية المعدلة جينياً تقوم هذه الخلايا نفسها بتفعيل الخلايا التائية التي تهاجمها مما يقوي الاستجابة المناعية ضد خلايا الورم.

أما التطور الكبير خلال السنوات القليلة الماضية في ميدان المعالجة الجينية فلا يكمن فقط في استبدال الجين المعوزة المتضررة في خلايا المريض بل في قص الجين المعوزة واستبدالها بالجين السليمة ضمن الموقع الجيني ذاته، داخل أو خارج العضوية. وتبرز هنا تقانات عدّة تستخدم نواقل فيروسية معدلة جينياً تحتوي على الجين السليم إضافةً إلى جين لإنزيم نكلياز Nuclease نوعي شطر الدنا على أطراف الجين المعوزة ويستبدلها بالجين السليم. ويبدو أن لهذه التقانات الأخيرة مستقبلاً واعداً جداً في تصحيح الطفرات الجينية سواء داخل العضوية أو خارجها (الشكل 8-20).



(الشكل 8-19). المعالجة الجينية داخل وخارج العضوية. يدخل الفيروس في المعالجة داخل العضوية *in vivo* مباشرة إلى جسم المريض، ويؤدي إلى التعبير عن الجين التي يحملها في الخلايا المستهدفة، بينما تُستخرج الخلايا المستهدفة بالمعالجة الجينية خارج العضوية *ex vivo* ونعيدها بالفيروس ومن ثم نعيدها إلى داخل جسم المريض لتقوم بالتعبير عن الجين المنقولة بالفيروس المعدل جينياً.



(الشكل 8-20). إضافة أو إصلاح الجين المعوزة بالمعالجة الجينية. (a) تُمكن إضافة جين سليمة خارج العضوية إلى خلية جذعية عبر ناقل فيروسي حيث تحتوي الخلية على النسخة المعوزة إضافةً إلى النسخة السليمة المنقولة. (b) يقوم إنزيم النكلياز المحتوي ضمن نفس الناقل الفيروسي، جنباً إلى جنب مع الجين السليمة، بشطر الدنا على طرفي الجين المعوزة، ومن ثم استبدال الجين السليمة مكان المعوزة، وذلك تحتوي الخلية الجذعية فقط على النسخة السليمة من الجين.

8.8. المتعضيات المحورة جينياً (GMOs) Genetically Modified Organisms

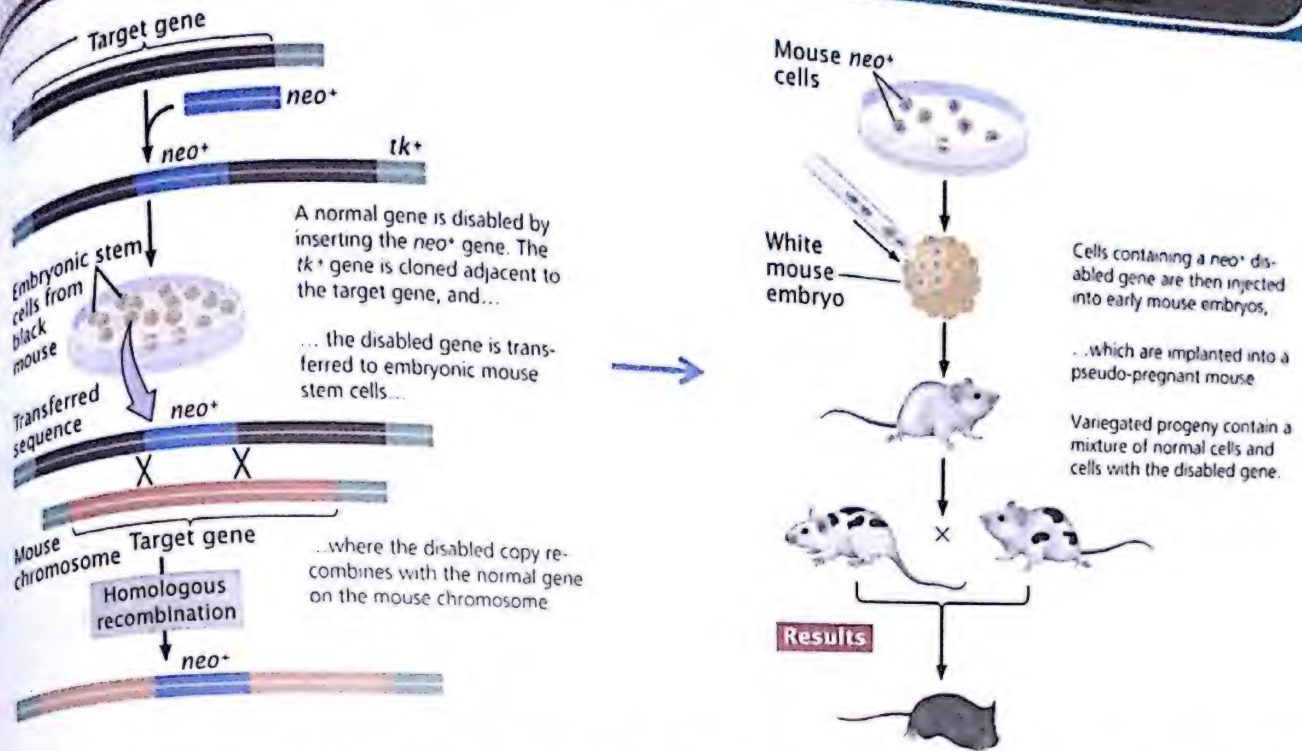
رأينا في الفقرة السابقة أنه، عبر المعالجة الجينية، قد أصبح بالإمكان إضافة جين سليمة لتصحيح الخلل في عوز جيني ما أو حتى استبدال الجين السليمة مكان الجين المعوزة. في الواقع، يمكن لهذا التعديل أن يحول الكائن المستهدف بالمعالجة الجينية، سواء كان بشراً أم حيواناً أم نباتاً أم جرثوماً، إلى متعضية محورة جينياً GMO. مع ذلك، يشار عموماً إلى المتعضيات المحورة جينياً أنها تلك التي تجري عليها تعديلات أهم وأكبر من استبدال جين واحدة تتبع لنفس النوع Species. وتبرز هنا أمثلة عن كثير من النماذج الحيوانية، أهمها الفأر، التي جرى عليها إلغاء جين أو عدة جينات من مجينها أو إضافة جينات بشرية لأغراض شتى أو حتى استبدال نوى الخلايا بنوى غيرها، ويقدم هذا المنحى الأخير لتقانات الاستنساخ Cloning.

1.8.8. إقصاء الجين Gene Knock out

يمكن عن طريق إقصاء الجينات الحصول على نماذج حيوانية يُلغى فيها التعبير عن البروتينات التي ترمزها هذه الجينات ودراسة تأثير ذلك في النمط الظاهري للكائن الحي واستقراء وظيفة الجين في حال كانت الوظيفة مجهولة أو غير محدّدة بدقة.

وكمثال عن الخطوات المتبعة لإقصاء جين في الفأر نذكر الخطوات التالية (الشكل 8-21):

- يجري تضخيم الجين المراد إقصاؤها بتفاعل الـ PCR واستخدام مشارع نوعية للجين.
 - يتم غرس تنالي لجين أخرى ترمز بروتيناً مقاوماً لأحد الصادات الحيوية (النيومايسين) داخل تنالي الجين المراد إقصاؤها، ومن ثم تعطيل الجين.
 - تُنقل الجين المعطّلة في المختبر إلى خلايا فأرية جنينية، إذ يمكن أن تتداخل مع تسلسل الجين الأصلية الموجودة في مجين الخلايا عبر التآشيب المماثل Homologous Recombination، ويقوم على مبدأ التماثل بين تناليات الجين المعطل والجين الأصلية إذ يتفكك طاقا الجين المعطّل والأصلي، ويعودان للارتباط لكن بشكل تنغرس فيه الجين المعطّل مكان الجين الأصلية.
 - يُجرى انتقاء الخلايا الجنينية التي نجح فيها انغراس الجين المعطّل مكان الجين الأصلية عبر استنبات الخلايا بوسط يحتوي الصاد الحيوي نيومايسين. وهكذا، تنمو فقط الخلايا التي تحتوي على البروتين المرمز من قبل جين النيومايسين المُقحمة في مجين الخلايا.
 - تحقن الخلايا إيجابية الانغراس في جنين فأر آخر لتتطور لاحقاً إلى خلايا وأنسجة لا تعبّر عن منتج الجين المعطّل أو الذي تم إقصاؤه.
- من النماذج الحيوانية الشائعة التي حُضرت بهذه الطريقة الفئران التي أقصيت لديها جينتا عاملي التخثر الثامن والتاسع لينتج نموذجان للناعور A والناعور B، على التوالي. مكن هذان النموذجان من دراسة تأثير الأدوية المضادة للنزف التي استخدمت لاحقاً في علاج مرضى الناعور.



(الشكل 8-21) مثال عن خطوات إقصاء الجين Gene Knock Out. تنقل الجين المعطلة بالنيومايسين إلى خلايا جنينية فأرية، ويتم انتقاء الخلايا المقاومة للصاد الحيوية ونقلها إلى جنين فأر آخر ومن ثم دراسة تأثير غياب الجين في الخلايا المتمايزة الناتجة عن تعطيل وإقصاء الجين المستهدفة.

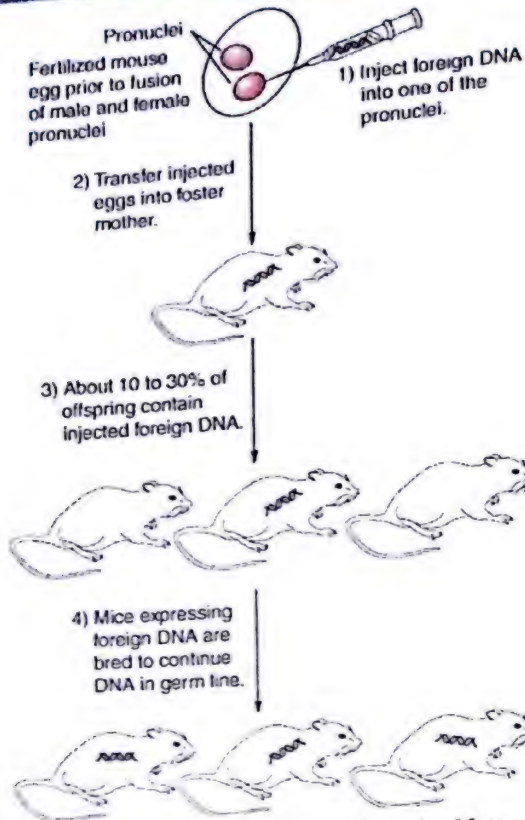
2.8.8. إضافة الجين Gene Knock in

بشكل مماثل لإقصاء الجين، تمكن دراسة وظيفة جين بشري ما بإضافة هذا الجين إلى مجين الفأر واستقراء نتائج ذلك على النمط الظاهري للحيوان. وكمثال عن الخطوات المتبعة لإضافة جين بشري إلى مجين الفأر نذكر الخطوات التالية (الشكل 8-22):

- تُحقن قطعة من الدنا البشري حاوية على الجين المراد إضافتها داخل طليعة النواة Pronucleus للنطفة أو البويضة قبل اندماج طليعتي النوى وتشكيل الزيجوت Zygote.
- تنقل الزيجوت إلى رحم فأرة أم بديلة، وينمو الجنين لتكون نحو 30% من الذرية إيجابية تعبر عن الجين البشرية.

على سبيل المثال، لدى إضافة جين هرمون النمو البشري إلى الفأر ينتج فأر أكبر حجماً بشكل واضح عن أقرانه نتيجة النمو المحرض بالهرمون البشري (الشكل 8-22). ويدعى الفأر الذي تلقى جين غريبة عنه بـ Transgenic Mouse.

والجدير هنا بالذكر أنه تم في الكثير من النماذج الحيوانية دمج تقائتي إقصاء وإضافة الجينات حيث أقصيت جينات الفأر، وأضيفت مقابلاتها من جينات بشرية بهدف معرفة سلوك البروتين البشري ضمن الفأر إضافة إلى تحضير كواشف يمكن استخدامها في الكثير من التجارب البحثية. يدعى الفأر المحضّر بهذه الطريقة بـ Knock out/knock in Mouse.



(الشكل 8-22) مثال عن خطوات إضافة الجين Knock In. (يسار) تؤدي إضافة قطعة دنا غريب لإحدى طليعتي النواة في الببضة المخصبة قبل دمج طليعتي النواة معاً إلى إنتاج فأر يعبر عن الجين الغريب ويدعى بـ Transgenic Mouse. ولاحقاً يُجرى تزاوج لهذا الفأر لينقل عن طريق التزاوج وبشكل بسيط وسهل الجين الغريبة إلى الأجيال القادمة. (يمين) مقارنة بين حجم فأرين؛ الأول فأر طبيعي من النمط البري (الشائع) Wild Type (إلى يمين الصورة) والثاني فأر Transgenic يعبر عن جين هرمون النمو البشري (إلى يسار الصورة). ويبدو واضحاً أن حجم الفأر الثاني أكبر نتيجة تلقيه جين هرمون النمو والتعبير عن بروتين فعال أدى وظيفته في تحفيز النمو.

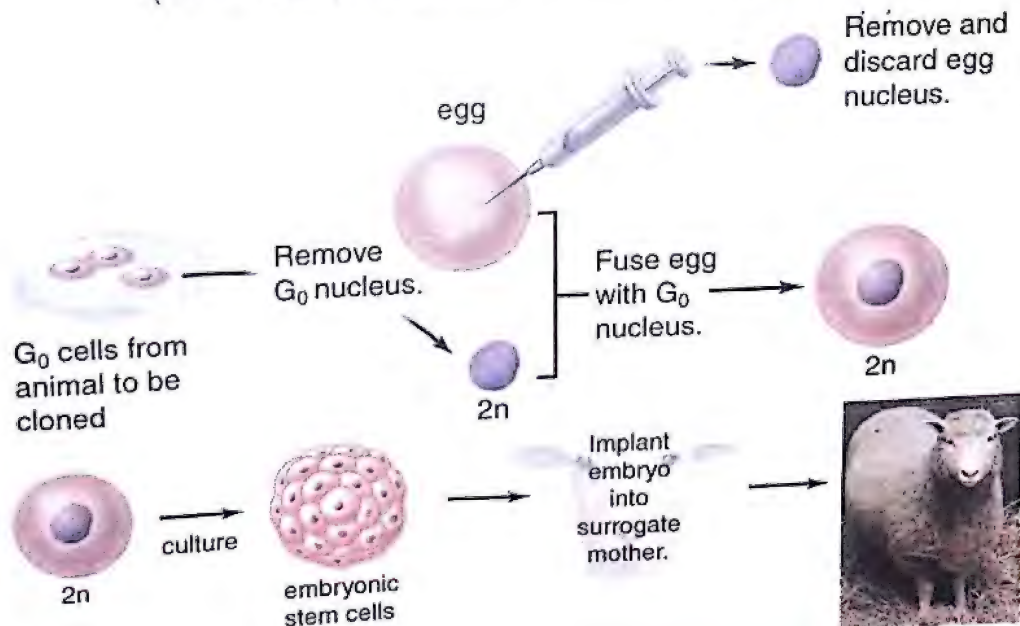
3.8.8. نقل النواة الجسدية (SCNT) Somatic Cell Nuclear Transfer والاستنساخ

Cloning

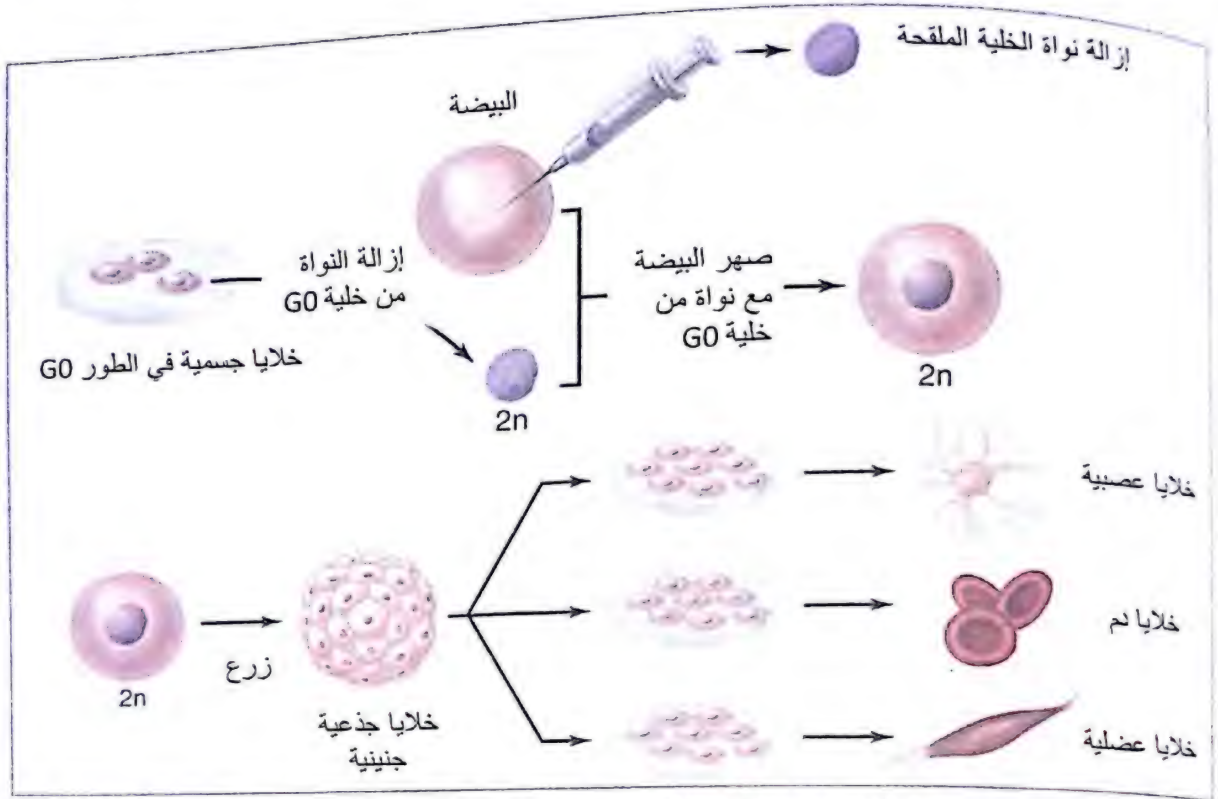
تعود بداية محاولات الاستنساخ التجريبي إلى العالم الألماني هانز سبيمان Hans Spemann في بدايات القرن العشرين، الذي أظهر بوسائله البسيطة أن انتقال نواة إحدى خلايا القسيم الأرومي الجنيني Blastomere لجنين الضفادع من خلية منوأة إلى خلية أخرى منزوعة النواة قد أدى إلى تطور الخلية التي اكتسبت النواة لتعطي شرغوفاً سليماً. منذ ذلك الحين، كثرت المحاولات لتطبيق المبدأ نفسه على الحيوانات الثديية بهدف استنساخ الحيوانات ذات الأنماط الجينية Genotypes الأمثل، الأمر الذي سينعكس بالضرورة على انتخاب أفضل سلالات من تلك الحيوانات وتحسين أنماطها الظاهرية. واستمرت تلك المحاولات إلى أن أثبت العالم الإنكليزي إيان ويلموت Ian Wilmut عام 1996 نجاح ذلك، أن أنتج أول حيوان ثديي بطريقة نقل نواة الخلية الجسمية Somatic Cell Nuclear Transfer أو SCNT، وليس بالطبع عن طريق التكاثر الجنسي Sexual Reproduction الطبيعي.

كان ذاك الحيوان هو النعجة الشهيرة دوللي Dolly، التي أظهرت تطابقاً تاماً مع النعجة الأم، إن من حيث الشكل أو التكوين الوراثي. ولتحقيق ذلك، قام ويلموت في مختبره بزرع خلايا ظهارية من الغدد الثديية للنعجة "الأم" من فصيلة أغنام تسمى بـ Poll Dorsets (بيضاء لون الوجه) في المختبر، ومن ثم اختيرت إحدى تلك الخلايا وسحبت منها النواة. في الوقت نفسه، أخذت بيضة مُخصَّبة نتجت عن تكاثر جنسي طبيعي لأغنام من فصيلة أخرى تسمى بـ Scottish Blackface (سوداء لون الوجه) وسحبت منها النواة أيضاً لتتحول إلى خلية منزوعة النواة Enucleated Cell، ثم حقنت داخلها نواة الخلية الثديية لفصيلة Poll Dorsets بحيث تم صهر النواة وهيولى الخلية منزوعة النواة بعضهما مع بعض. نتيجة لذلك، تكونت بيضة مُخصَّبة تحوي نواةً وهيولى تتبعان لفصيلتين مختلفتين من الأغنام، وتبع ذلك تطور البيضة وانقسام الخلايا الجذعية الجنينية لتشكل الجنين Embryo. طوّر ويلموت ومعاونوه 277 جنيناً بطريقة نقل النواة الجسمية هذه وصل منها 29 جنيناً فقط إلى مرحلة الكيسة الأريمية Blastocysts ونقلت الكيسات إلى أرحام أمهات بديلة Surrogate Mothers لإناث أغنام Blackface، وحصل الحمل عند إحدى تلك الإناث فقط لتلد النعجة دوللي ذات الوجه الأبيض (الشكل 8-23). أدرك ويلموت ببساطة نجاح عملية استنساخ دوللي، التي أظهر وجهها الأبيض أن خلاياها تمتلك التكوين الوراثي للخلايا التي انتزعت منها النوى، وليس لخلايا البيضة المخصَّبة منزوعة النوى.

يدعى هذا النوع من الاستنساخ بالاستنساخ التكاثري Reproductive Cloning الهادف إلى ولادة كائن حي تُعرف صفاته الوراثية بشكل مسبق (صفات أم النعجة دوللي نفسها). وحديثاً نشط نوع آخر من الاستنساخ سمي بالاستنساخ العلاجي Therapeutic Cloning غير الهادف لإنتاج حيوانات مستنسخة بل الهادف للحصول على خلايا جذعية جنينية معروفة الصفات الوراثية، يمكن تحريض تمايزها إلى خلايا ونسج تفيد في الطب التجديدي Regenerative Medicine (الشكل 8-24).



(الشكل 8-23) استنساخ النعجة دوللي. بدأت خطوات الاستنساخ بإكثار خلايا ثدي ظهارية للنعجة الأم في المختبر ونزع نواة إحداهما وإبلاجها في خلية بيضة مُخصبة منزوعة النواة. تطورت البيضة المخصبة وأعطت جنيناً زرع في رحم نعجة أم بديلة وأنتج دوللي التي امتلكت كامل الصفات الوراثية لأُمها.



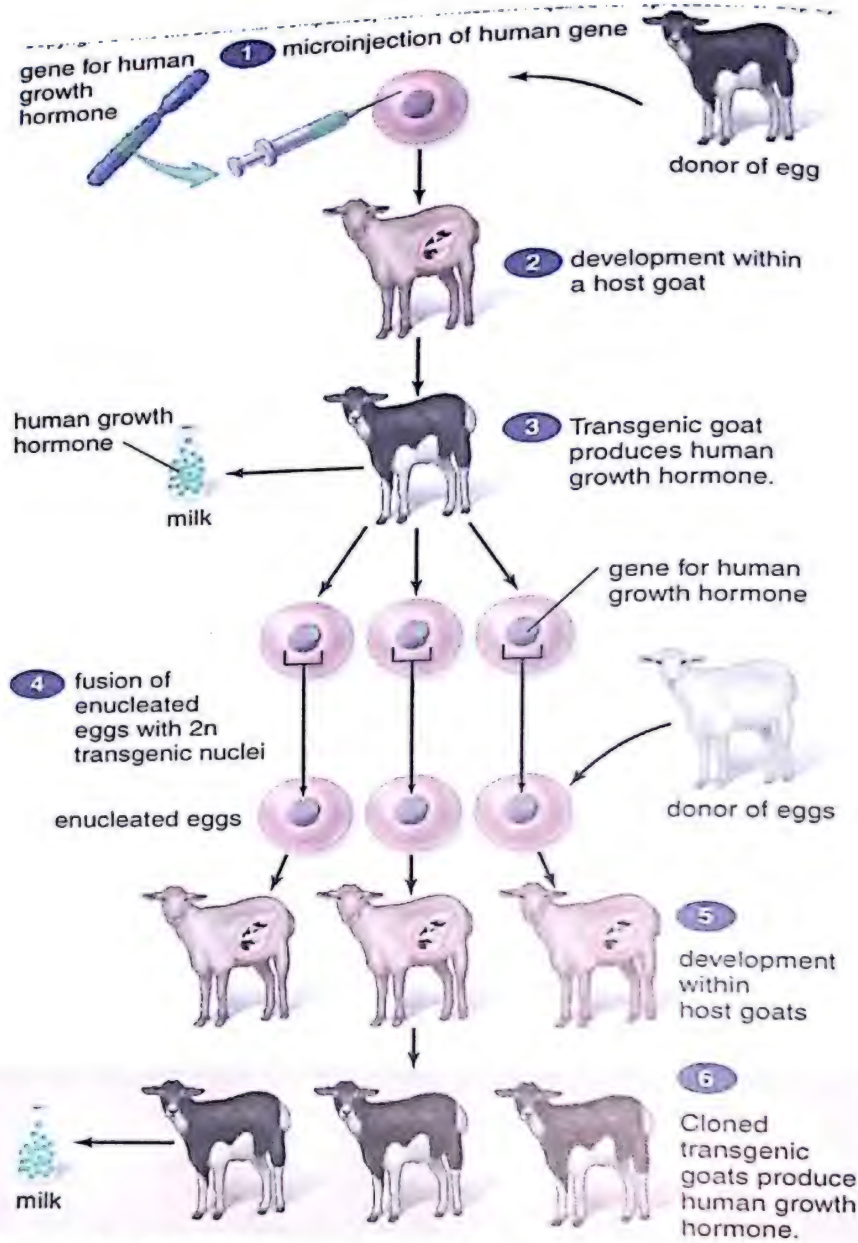
(الشكل 8-24) الاستنساخ العلاجي. تؤخذ خلية جسمية بشرية معروفة الصفات الوراثية وتزال نواتها وتزرع في خلية مخصبة بشرية منزوعة النواة. تتطور البيضة المخصبة لتصل إلى مرحلة الكيسة الأريمية Blastocyst. تُشتق من الكيسة الخلايا الجذعية الجنينية (Embryonic Stem Cells (ESCs التي يمكن تحريض تمايزها إلى خلايا ونسج يمكن أن تستخدم في تجديد النسيج لدى نفس الشخص المعطي للخلايا الجسمية.

وأخيراً، يمكن دمج تقانتي إضافة الجينات ونقل النواة الجسمية معاً للحصول على أحد التطبيقات المهمة في عالم تصنيع الدواء في الكائنات الحية أو ما يسمى بالصيدلة الجينية Gene Pharming. على سبيل المثال، يمكن إنتاج هرمون النمو البشري وجمعه في حليب الماعز عبر توليد أنثى ماعز Transgenic تعبر عن جين هرمون النمو البشري، ومن ثم استنساخها بنقل بعض من نواها الجسدية إلى بيوض منزوعة النوى (الشكل 8-25). تبدأ عملية الإنتاج بتحرير جين هرمون النمو من الدنا البشري. يحقن الدنا الحاوي على الجين بشكل مجهري في نواة إحدى البيوض المخصبة الأنثوية للماعز، ويتم نقل الجنين المتشكل، الذي أصبح الآن معدلاً وراثياً، إلى رحم أم بديلة ليكمل تطوره باتجاه أنثى ماعز بالغة ومعدلة وراثياً. تفرز أنثى الماعز المعدلة وراثياً هرمون النمو في حليبها، إذ يتم جمع البروتين وتنقيته تهيئةً لاستخدامه كدواء. وعلى اعتبار أن تحضير الحيوان المعدل وراثياً من الناحية العملية مكلف، ويتطلب وقتاً طويلاً وقليل النجاح، يمكن زيادة مردود العمل عبر نقل نواة جسمية للماعز المعدل وراثياً، والمعبّر

عن جين هرمون النمو البشري، إلى بيوض مخصبة منزوعة النواة مأخوذة من ماعز معطي Donor، وذلك لاستتساخ عدد كافٍ من الماعز المحوّر وراثياً لإنتاج الكميات المرغوبة من هرمون النمو. وتجدر الإشارة في هذا الصدد إلى أن عدة مراكز عالمية اليوم تسعى جاهدةً إلى إنتاج كثير من البروتينات العلاجية الأخرى لأمراض مثل التليف الكيسي Cystic Fibrosis، وأمراض الدم والسرطانات، عبر استتساخ نباتات محوّرة وراثياً قادرة على إنتاج تلك الأدوية بكميات تجارية. أما على الصعيد الصناعي، فقد تم إنتاج خيوط حرير العنكبوت Spider Silk عبر التعبير عن جين حرير العنكبوت في الغدد الثديية لإناث ماعز معدّلة وراثياً، وبشكل يمكن من جمع البروتين وتنقيته من الحليب. يمكن الاستفادة من بروتين الحرير المأشوب في تصنيع بزات عسكرية مقاومة للرصاص، إذ إن قساوة الحرير أعلى بخمس مرات من الفولاذ وهو في الوقت نفسه مادة عديمة الوزن فعلياً ومندركة حيويّاً Biodegradable. وأطلق على حرير العنكبوت المنتج بهذه الطريقة بالفولاذ الحيوي BioSteel.

9.8. خاتمة.

تعرفنا في هذا الفصل على الكثير من التقانات المستخدمة في علم الوراثة سواء تلك التي استخدمت في فهم الآليات الوراثية أم في التشخيص الجزيئي أو العلاجات الجينية. وعلى الرغم من أن الكثير من الغموض لا زال يكتنف كثيراً من آليات الوراثة الجزيئية، فقد استفدنا من المعرفة المتراكمة خلال العقود الماضية بشكل كبير لترجمة تلك المعرفة في التطبيقات الكثيرة لها، ومن أهمها إنتاج بروتينات علاجية غيرت مسار العلاج للكثير من الأمراض المزمنة الشائعة.



(الشكل 8-25) دمج إضافة الجين مع الاستنساخ التكاثري لإنتاج هرمون النمو البشري في الغدد الثديية لإناث الماعز واستخلاص البروتين البشري من الحليب. 1. حقن مجهرى لجين هرمون النمو البشري في بيضة مخصبة للماعز، 2. تطور البيضة المخصبة إلى جنين، 3. ولادة أنثى ماعز تفرز بروتين هرمون النمو البشري في الحليب، 4. نزع نواة خلايا جسدية لأنثى الماعز المحورة وراثياً Transgenic وحقنها في بيضة مخصبة منزوعة النواة ونقل البيضة المخصبة الناتجة إلى رحم أم بديلة، تطورت فيها الأجنة، 6. إنتاج عدد كبير من إناث ماعز معدلة وراثياً تفرز هرمون النمو في الحليب الذي يُجمع ويُعمل على تنقية هرمون النمو منه بوسائل مختلفة.

الفصل التاسع

المجين البشري

(Human Genome)

المحتويات Contents

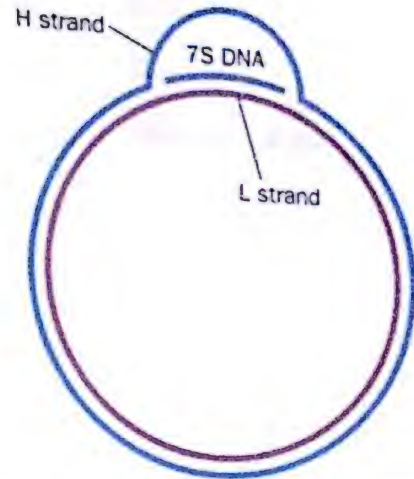
- | | |
|--|---------------------------------------|
| 3.9. تغير تسلسل النوكليوتيدات أو الطفرة | 1.9. المجين المتقدي |
| 3.9. 1. تصنيف الطفرات في الجينات البنيوية | 2.9. المجين النووي |
| 3.9. 1.1. التصنيف الجزيئي للطفرات | 2.9. 1. هندسة المجين البشري |
| 2.3.9. مفهوم السيادة والتحي للطفرات وعلاقته بالأمراض | 2.9. 2. الجينات المرمزة للبروتينات |
| الوراثية | 2.9. 3. جينات الرنا |
| 3.3.9. التسمية الاصطلاحية للطفرات | 2.9. 4. تتاليات الدنا المتكررة |
| | 2.9. 5. العناصر الانتقالية أو الينقول |

المجين (Genome) هو كامل بُنى الدنا الموجودة في كائن حي بشقيهِ الجينات المُرمّزة للبروتين (Protein-encoding genes) والتسلسلات الأخرى من الدنا (DNA sequences) غير المُرمّزة للبروتين. انتهى الباحثون في العام 2003 من سلسلة المجين البشري. يتألف المجين البشري النووي (Nuclear genome) من نحو 26000 جين. فيما يحتوي المجين المتقدي (Mitochondrial genome) على 37 جين. يُشكل المجين النووي الكتلة الرئيسية للمعلومات الجينية لدى الإنسان وتوزع جيناته على 23 أو 24 صبغياً مختلفاً.

تملك المتقدرات المجين الخاص بها، وهو عبارة عن جزيئ حلقى مفرد يُرمّز لاصطناع بروتينات خاصة بالمتقدرات. يجدر التنويه هنا إلى أن معظم بروتينات المتقدرات تُرمّز من قِبَل الجينات النووية وتُصنّع من قِبَل الريباسات الهيولية قبل انتقالها إلى المتقدرات. يُشكل التسلسل المُرمّز للبروتين (Protein-coding DNA sequence) نحو 1.5 % من المجين البشري.

1.9. المجين المتقدي

يتألف المجين المتقدي من طاقين من الدنا يأخذان شكلاً حلقياً، ويبلغ طوله 16.6 كيلو من شفع الأسس (16.6 kilobases)؛ الطاق الثقيل (Heavy strand) ويُرمّز له بـ: H غني بالغوانين، أما الطاق الخفيف (Light strand) ويُرمّز له بـ: L غني بالستوزين. خلال تشكل الزوجات تساهم النطفة بمجينةا النووي دون المتقدي، ومن ثم فإن مصدر المتقدرات والمجين الموجود داخل الزوجات أمومي المنشأ. تتضاعف المتقدرات وتوزع في الخليتين البنيتين بشكلٍ عشوائي خلال الانقسام الفتيلي (Mitosis). يتضاعف الدنا المتقدي باتجاه وحيد ابتداءً من موقع محدد يسمى CR/D-loop region (شكل 9 - 1). يتم اصطناع الطاق الثقيل أولاً باستخدام الطاق الخفيف كمرصاف (Template) يتبعه اصطناع الطاق الخفيف باستخدام الطاق الثقيل كمرصاف ولكن باتجاه معاكس لاصطناع الطاق الثقيل. يحوي الدنا المتقدي على 37 جين، 28 منها موجودة في الطاق الثقيل والباقي في الطاق الخفيف. تتحكم عدة محضضات (Promoters) بانتساخ الجينات في الدنا المتقدي بشكلٍ مشابهٍ للدنا الجرثومي وعلى عكس الدنا النووي (إذ تملك كل جين محضضها الخاص بها).



(شكل 9-1): يتألف الدنا المقدي من طاق
ثقل H وآخر خفيف L. يتوضع بين الطاقين
شدة (7S DNA) تحوي الكثير من
التسلسلات المنظمة للتضاعف.

ينجم عن الانتساخ جزيئة RNA مؤلفة من عدة مُنَسَخات (Transcripts) لعدة جينات معاً، ليتم شطرها
بعد ذلك إلى شدة تمثل كل واحدة منها جين واحدة. تتوزع جينات الدنا المقدي على النحو الآتي: 22
جين تُرمز tRNA مقدي، جينتان تُرمزان rRNA مقدي، 13 جين تُرمز بروتينات السلسلة التنفسية
والفسفرة التأكسدية في الميتوكوندريات، حيث تُصنع من قبل الريباسات المقديرية
(Mitochondrial ribosomes) (جدول 9-1). يجب التنويه هنا إلى أن القسم الأعظم من بروتينات
وإنزيمات السلسلة التنفسية وإنتاج الـ ATP تُصنع من قبل الدنا النووي. يُلاحظ خلو الجينات في
الميتوكوندريات من الإنترونات (Introns)، كما يُلاحظ انضغاطها وتقاربها بعضها من بعض مقارنةً بالجينات
في الدنا النووي.

(جدول 9-1) : يبين مكونات الميتوكوندريات والجينات المرمزة لها في المجين المقدي والمجين النووي.

Mitochondrial component	Encoded by	
	Mitochondrial genome	Nuclear genome
Components of oxidative phosphorylation system	13 subunits	80 subunits
I NADH dehydrogenase	7	42
II Succinate CoQ reductase	0	4
III Cytochrome b-c ₁ complex	1	10
IV Cytochrome c oxidase complex	3	10
V ATP synthase complex	2	14
Components of protein synthesis apparatus	24 RNAs	79 proteins
rRNA	2	0
tRNA	22	0
Ribosomal proteins	0	79
Other mitochondrial proteins	0	All^a

يحتوي الدنا المتقدي على 60 رامزاً (Codon) تُرمز لأحماض أمينية و4 روامز موقفة للترجمة هي: UAA، UAG، AGA، AGG. الرامزان الأول والثاني موقفان للترجمة في الدنا النووي أيضاً، بينما الرامزان الثالث والرابع فيرمزان للحمض الأميني أرجينين في الدنا النووي (شكل 9-2).

mtDNA variants						mtDNA variant	
AAA	Lys	CAA	Gln	GAA	Glu	UAA	STOP
AAG		CAG		GAG		UAG	
AAC	Asn	CAC	His	GAC	Asp	UAC	Tyr
AAU		CAU		GAU		UAU	
ACA	Thr	CCA	Pro	GCA	Ala	UCA	Ser
ACG		CCG		GCG		UCG	
ACC		CCC		GCC		UCC	
ACU		CCU		GCU		UCU	
STOP	AGA	Arg	CGA	GGA	Gly	UGA	STOP Trp
	AGG		CGG	GGG		UGG	Trp
	AGC		CGC	GGC		UGC	Cys
	AGU		CGU	GGU		UGU	
Met	AUA	Ile	CUA	GUA	Val	UUA	Leu
	AUG	Met	CUG	GUG		UUG	
	AUC	Ile	CUC	GUC		UUC	Phe
	AUU		CUU	GUU		UUU	

(شكل 9-2) روامز الأحماض الأمينية والروامز الموقفة للترجمة في الدنا النووي وما يقابلها من الروامز في الدنا المتقدي. تم تظليل الروامز المختلفة بين المجينين النووي والمتقدي.

2.9. المجين النووي

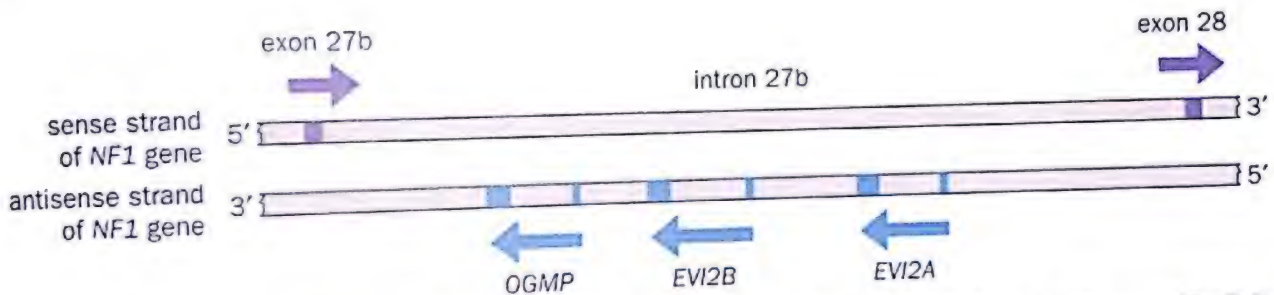
يبلغ طول المجين النووي البشري نحو 3000Mb (1M=1000k)، ويتوزع على 23 أو 24 صبغي. يلتف الدنا النووي حول بروتينات تُدعى الهستونات (Histons). يتألف المجين النووي من منطقتين واحدة غنية بالجينات الفعالة ذات معدل انتساخ عالٍ وتسمى بالكروماتين الحقيقي، وثانية تكون فيها الجينات غير مُفعّلة وغنية بتكرارات من تسلسلات الدنا تُدعى بالكروماتين المُغايِر. يتركز الكروماتين المُغايِر في مناطق القسم المركزي من الصبغيات، ويكثر في الصبغيات: 1، 9، 16، 19، وفي الصبغيات طَرَفِيَّة القُسيم المَرْكَزِي. يبقى الكروماتين المُغايِر مكتثفاً خلال دورة الانقسام الخلوي. يحتوي المجين البشري النووي نحو 20500 جين والعدد مرشح لتخطي 30000 جين والسبب في عدم إعطاء رقم دقيق لعدد الجينات هو وجود جينات الرنا (RNA genes) وصعوبة تحديدها.

2.9. 1. هندسة المجين البشري (أنظر الفقرة 2.3 في الفصل الثالث)

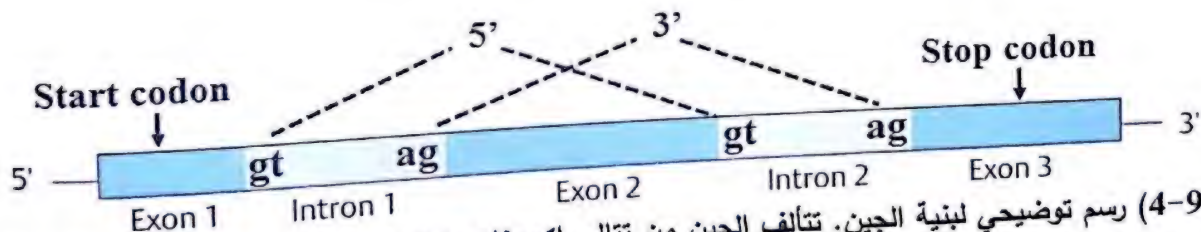
2.9. 2. الجينات المُرْمَزة للبروتينات

تختلف كثافة الجينات وعددها من صبغي لآخر، كما قد تختلف في الصبغي نفسه من منطقة لأخرى، وقد تتراكم أحياناً بعض الجينات كما هي الحال بالنسبة للجينات المُرْمَزة لمعقد التوافق النسيجي على الذراع القصير من الصبغي السادس. وفي بعض الأحيان قد تحوي جين كبيرة مثل جين *NF1* (**Neurofibromatosis type 1**) جينات أخرى بينها على الطاق الآخر (شكل 9-3).

تختلف الجينات المُرْمَزة للبروتينات الموجودة في المجين النووي في حجمها، ولكنها تشترك في أنها مؤلفة من إكسونات (Exons) وإنترونات (Introns). باستثناء قلة من الجينات خالية من الإنترونات (شكل 9-4). تُرْمَز الإكسونات الأحماض الأمينية في السلسلة الببتيدية التي سيتم ترجمتها لاحقاً ابتداءً من الرنا المرسال (mRNA)، فيما يتم إزالة الإنترونات من الرنا المرسال الأولي بعملية التَضْفِير (Splicing) (شكل 9-5).



(شكل 9-3): رسم توضيحي لجين *NF1*. تتوضع الجينات: *EVI2A* و *EVI2B* و *OGMP* في الإنترون 27b من الجين *NF1* ولكن بالاتجاه المعاكس على الطاق المقابل (Antisense strand).

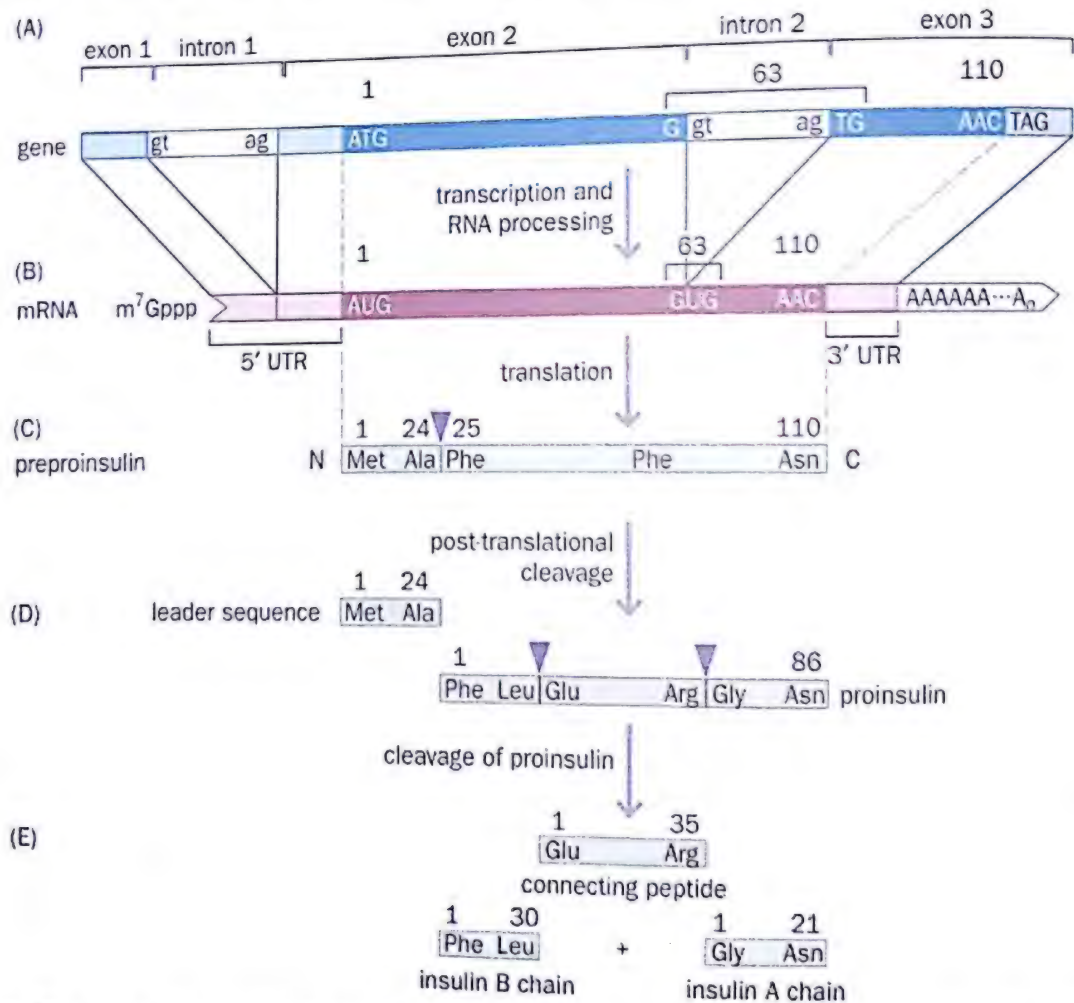


(شكل 9-4) رسم توضيحي لبنية الجين. تتألف الجين من تقالي إكسونات وإنترونات. الإكسونات هي التي تُترجم لاحقاً إلى بروتينات. الطرف 5' يمثل بداية الجين (حيث زمرة الفوسفات)، والطرف 3' يمثل نهاية الجين (حيث زمرة الهيدروكسيل). غالباً ما يتوضع راميّ بداية الترجمة في الإكسون الأول، وغالباً ما يتوضع الراميّ الموقف للترجمة في الإكسون الأخير. نلاحظ أيضاً مواقع التَضْفِير 5' و 3' في الإنترونات، غالباً ما يشغل هذه المواقع النوكليوتيدان gt في 5' والنوكليوتيدان ag في 3'.

نورد فيما يلي مسميات تستخدم أحياناً لوصف جزء من الجينات:

- عائلة الجينات (Gene family): هي مجموعة من الجينات تبدي شياً كبيراً فيما بينها في تسلسلاتها، مثل عائلات جينات الهستونات (Histone gene families) وعائلات جينات ألفا وبيتا غلوبين (α -globin and β -globin gene families). أو هي مجموعة من الجينات جزء يسير من تسلسلاتها يبدي شياً كبيراً فيما بينها، ويرمز هذا التسلسل لميادين (Domains) معينة في البروتينات مثل (DEAD box motif Asp-Glu-Ala-Asp).

- طائفة الجينات (Gene superfamily): تُعرف طائفة الجينات على أنها مجموعة من الجينات تُرمز لمنتجات مرتبط بعضها ببعض وظيفياً دون أن تبدي تلك الجينات في تسلسلاتها ذاك الشبه الكبير فيما بينها. مثال عنها طائفة الغلوبولينات المناعية (Ig superfamily = immunoglobulin) والتي تملك ميادين مشابهة لتلك الموجودة في الغلوبولينات المناعية ولكنها تختلف عنها بوظيفتها المتمثلة في ارتباط الخلايا مع بعضها وتمييزها بعضها لبعض.

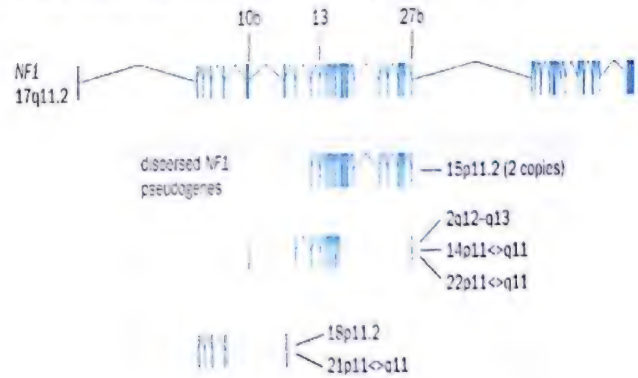


(شكل 9-5): (A) تتألف جين الأنسولين من ثلاثة إكسونات وإنترونين. المنطقة التي ستترجم إلى سلسلة عديد الببتيد موضحة بالأزرق الغامق. (B) الإكسون الأول وجزء من الإكسون الثاني يسمى بالمنطقة غير المترجمة من جهة 5'

(5' Untranslated region: UTR). والجزء الأخير من الإكسون الثالث يسمى بالمنطقة غير المترجمة من جهة 3' (3'UTR). (C) يتألف سلف طليعة الأنسولين (Preproinsulin) من 110 حمض أميني؛ يُرمز للأحماض الأمينية بـ aa. (D) يتم شطر 24 حمضاً أمينياً من النهاية الأمينية لسلسلة عديد الببتيد التي تمثل التسلسل القيادي (Leader sequence) لتعطي طليعة الأنسولين (Proinsulin). (E) تُشطر طليعة الأنسولين لتعطي الببتيد الواصل والسلسلتين A و B. تتشكل جسور كبريتية ما بين السلسلتين A و B لاحقاً لتعطي الأنسولين الفعال.

- الجينات الكاذبة (Pseudogene): هي جينات كاملة أو جزء من جينات (عدة إكسونات) معيبة (Defective) مماثلة لجينات أخرى وظيفية موجودة في المجين. يعود العيب في الجينات الكاذبة لخلوها من بعض التسلسلات الوظيفية مثل الإنترونات أو التسلسلات ما قبل المحضض (Promoter) أو المحضض نفسه. يُوجد لجين *NF1* مثلاً عدة جينات كاذبة متوزعة على عدة صبغيات (شكل 9-6). تضاربت الآراء حول الدور الوظيفي للجينات الكاذبة ولا سيما أن عدداً منها يُنسخ، إذ تقوم بعض المُنتسخات بتنظيم التعبير الجيني للجينات الوظيفية المشابهة لها. تعطي جين *X/ST* الموجودة في الصبغي X مُنتسخات لا تُترجم إلى بروتين (noncoding RNA)، ولكنها تقوم بتعطيل أحد الصبغيين X لدى الأنثى.

(شكل 9-6) تتوضع جين *NF1* الوظيفية على الصبغي السابع عشر وتتألف من 60 إكسوناً تم تمثيلها بخطوط دقيقة عمودية، فيما مثّلت الإنترونات بزوايا حادة ما بين الإكسونات. توجد على صبغيات أخرى تسلسلات مشابهة إلى حد كبير لجزء من جين *NF1*.



2.9.3. جينات الرنا

يزيد تعداد جينات الرنا عن 6000 جين في المجين البشري، تتميز عن الجينات المُرمزة للبروتين بانساختها لتعطي جزيئات RNA مختلفة أطوالها دون ترجمتها إلى بروتينات. يُعدّ تحديد مكان جينات الرنا غير المُرمز (noncoding RNA) (اختصاراً يُرمز له بـ ncRNA) للبروتين ضمن المجين البشري صعباً بالمقارنة مع الجينات المُرمزة للبروتين. لقد أثبت الدور المهم لقسم من الرنا غير المُرمز في الخلية الحية وبقي البحث قائماً لمعرفة وظيفة القسم الآخر لهذا النوع من الرنا. يمكن تصنيف ncRNAs بحسب وظيفتها ومكان التعبير عنها إلى:

- الرنا الناقل (Transfer RNAs) (اختصاراً يُرمز له بـ tRNAs): يتراوح طوله بين 70 و 80 نوكلّيوتيداً. يشارك في عملية فك الروامز في الرنا المرسال (Messenger RNAs) (اختصاراً يُرمز له بـ mRNAs) وتصنيع السلاسل الببتيدية.

- الرنا الريباسي (Ribosomal RNAs) (اختصاراً يُرمز له بـ: rRNAs): يتراوح طوله بين 125 و5000 نوكليوتيداً. يرتبط مع بروتينات ليشكل الريباسات (Ribosomes). يُوجد منه، بالإضافة إلى نمطين في المتقدرات، أربعة أنواع هيولية.

- الرنا النووي الصغير (Small nuclear RNAs) (اختصاراً يُرمز له بـ: snRNAs) يوجد في النواة ويتراوح طوله بين 60 و360 نوكليوتيداً. يرتبط مع بروتينات ليشكل البروتينات النووية الريبوزية الصغيرة (small nuclear ribonucleoprotein) (snRNPs): تساهم هذه البروتينات في عملية تضفير جزيئات الرنا بعد انتساخها من الدنا. يقوم الرنا النووي الصغير بأدوار أخرى غير التضفير، فمنها من يحفز إنزيم الانتساخ RNA polymerase ومنها من يتدخل في تضاعف الصبغيات وفي تنظيم انقسام الخلية.

- الرنا النووي الصغير (Small nucleolar RNA) (اختصاراً يُرمز له بـ: snoRNA): يتراوح طوله بين 60 و300 نوكليوتيداً، يعمل على إنضاج الرنا الريباسي.

- الرنا المكروي (MicroRNA) (اختصاراً يُرمز له بـ: miRNA): طوله نحو 22 نوكليوتيداً. يملك دوراً مهماً في تنظيم التعبير الجيني.

- Piwi-binding RNA: (اختصاراً يُرمز له بـ: piRNA): يتراوح طوله بين 24 و31 نوكليوتيداً. يُعبّر عنه فقط في الخلايا المولدة للأعراس، ويحد من تشكّل الينقُول (Transposon) (أنظر أدناه).

- الرنا التداخلي القصير داخلي المنشأ (Endogenous short interfering RNA) (اختصاراً يُرمز له بـ: endo-siRNA): يتراوح طوله بين 21 و22 نوكليوتيد. يُعبّر عنه من قبل الجينات الكاذبة غالباً، ويؤدي دوراً مهماً في تنظيم التعبير الجيني.

- الرنا غير المُرمز الطويل (Long noncoding RNA) (اختصاراً يُرمز لها بـ: LncRNA): يجاوز طوله الـ 1000 نوكليوتيداً. يؤدي دوراً مهماً في تنظيم التعبير الجيني. مثاله الجين *XIST* التي تؤدي دوراً أساسياً في تعطيل أحد الصبغيين X لدى الأنثى.

2.9. 4. تتاليات الدنا المتكررة

تتالي الدنا المتكرر هو تسلسل من النوكليوتيدات يتراوح طوله بين نوكليوتيدين حتى 200، ويتكرر هذا التسلسل عدداً قليلاً أو كثيراً من المرات. تنتشر الكثير من هذه التتاليات في المجين النووي في مناطق خارج الجينات. وقد توجد هذه التتاليات في الإنترونات وأحياناً في الإكسونات كما هي الحال بالنسبة للجين *LPA* المُرْمزة للبروتين الشحمي (a) *Lp*. تُسمى عادةً هذه التتاليات بالتكرارات الترادفية (Tandem repeats). تكثر التسلسلات المتكررة في مناطق الكروماتين المُغايِر. نذكر من هذه التسلسلات satellite DNA و minisatellites و microsatellites جدول (9-2). لم يُعرف الكثير

عن وظيفة التسلسلات المتكررة في الدنا. يؤدي أحد أنواع التكرارات α -satellite، وهو من عائلة satellite DNA، دوراً مهماً في وظيفة القسم المركزي للصبغيات لدى الإنسان حيث يتواجد فيها. كما تبين أن لا minisatellites دوراً مهماً في الحفاظ على القسم الطرفي في الصبغيات.

اسم التكرار	حجم التكرار الكلي	حجم وحدة التسلسل الموجودة في التكرار الكلي	موضع التسلسل ضمن الصبغي
Satellite DNA	Kb 100<	bp 171 -10 ~	الكروماتين المغاير
Minisatellite DNA	Kb 20 -0.1 ~	bp 64 -6 ~	القسيمات الطرفية للصبغيات
Microsatellite DNA	bp 100>	bp 4 -1	منتشر في الصبغيات كلها

(جدول 9-2) يوضح الجدول الفرق بين ثلاثة أنواع من التتاليات في الـ DNA هي: satellite و minisatellites و microsatellites. Kb هي وحدة قياس طول التسلسل في الدنا، وتعني ألف شفع من الأسس، و bp تعني شفع من الأسس.

2.9.5. العناصر الانتقالية أو الينقول (Transposon)

يوجد في المجين البشري النووي تكرارات لتسلسلات من الدنا غير مُرمزة تدعى بالينقول أو تدعى بالعناصر الانتقالية (Transposable elements). سُميت بذلك لتتقلها ما بين مناطق مختلفة من المجين. مع العلم أن الكثير من هذه العناصر قد فقد قدرته على الانتقال. تمكن الباحثون من تحديد عدة أنواع من هذه العناصر الانتقالية: LINEs (Long interspersed nuclear elements)، SINEs (Short interspersed nuclear elements)، LTRs (Long terminal repeats)، عناصر DNA (الجدول 9-3).

- يتألف الـ LINEs من ثلاث عائلات: LINE-1 و LINE-2 و LINE-3. تشكل هذه العائلات مجتمعةً نحو 21% من المجين. تتوضع بشكل رئيسي في مناطق الكروماتين الحقيقي. يعد LINE-1 (اختصاراً L1) قادراً على الانتقال كونه يُرمز لإنزيمات تملك فعالية المُنَسَخَة العكسية (Reverse transcriptase) والنوكلياز الداخليّة (Endonuclease). يؤدي L1 دوراً في انتقال عناصر انتقالية أخرى مثل SINEs، وكذلك في تشكيل الجينات الكاذبة حتى في نشوء بعض الأمراض الوراثية إذا ما أُقجم عنصر انتقالي في بنية جين ما.

- لا يُرمز الـ SINEs أي بروتين ومن ثم لا يمكنه الانتقال وحده. يحوي SINEs عائلات عدة منها: عائلة Alu، وهي أكثرها وفرةً ضمن SINEs، وتنتشر في مناطق الكروماتين الحقيقي، وعائلة MIR (Mammalian-wide interspersed repeat).

(الجدول 9-3) العناصر الانتقالية في المجين البشري.
يُلاحظ الفرق بينها في الحجم، وعدد نسخها في
المجين، ونسبة ما تشكله من المجين.

Element Type	Length	Copies in Genome	% of Genome
LINEs	1-6 kb	850,000	21
SINEs	100-500 bp	1,500,000	13
LTR Elements	<5 kb	443,000	8
DNA Elements	80-300 bp	294,000	3

3.9. تغير تسلسل النوكليوتيدات أو الطفرة

الطفرة (Mutation) هي تغير في تسلسل النوكليوتيدات في جزيء الدنا بشكل دائم. قد تحدث الطفرات بغياب العوامل المُطَفِّرة وفي هذه الحالة تسمى الطفرة التلقائية (Spontaneous mutation). تضاعف الدنا ليس بالعملية التي يتم إنجازها بدقة مطلقة بالرغم من وجود كثير من إجراءات الوقاية والمراقبة. وبالتالي فاحتمال الخلل في أحد النوكليوتيدات وارد. وإذا ما أضفنا العوامل الخارجية مثل العوامل الكيميائية والإشعاعية كالأشعة فوق البنفسجية (Ultraviolet light) فإن احتمال التغير في تسلسل النوكليوتيدات يزداد بشكل ملحوظ. يُدعى العامل الذي يسبب الطفرة بالمُطَفِّر (Mutagen). يتراوح حجم الطفرة من تغير في نوكليوتيد واحد، وتسمى عندها الطفرة النقطية (Point mutation)، إلى أذية كبيرة تصيب الصبغي، وتسمى بالزيج الصبغي (Chromosome aberration). يمكن أن تحدث الطفرة في أي مكان من المجين. وبما أن الدنا البشري في معظمه لا يرمز أي منتج، فإن الكثير من الطفرات قد لا تحمل أي تأثير على النمط الظاهري أو وظائف الخلية. على العكس من ذلك فإن الطفرات التي تصيب إكسوناً ما في جين ما قد تغير من منتج الجين تلك، مما قد يسبب تبديلاً كبيراً في النمط الظاهري.

يعتمد فهم الأساس الحيوي لاعتلال وراثي على معرفة الجين المسؤولة عن ذلك الاعتلال وتحديد النتائج المترتبة على الطفرات في تلك الجين. عندما تحدث الطفرات في خلايا الجسم يطلق عليها اسم الطفرة الجسدية (Somatic mutation). هذا النوع من الطفرات لا ينتقل إلى الدرية، بينما تنتقل الطفرات التي تحدث في الخلايا الجنسية (Germ cells) المولدة للأعراس من جيل لآخر وتسمى بطفرة الخلية الجنسية (Germinal mutation).

3.9.1. تصنيف الطفرات في الجينات البنيوية

3.9.1.1. التصنيف الجزيئي للطفرات

يعتمد التصنيف البسيط لطفرات استبدال النوكليوتيدات على المجموعة التي ينتمي إليها النوكليوتيد المُستبدَل. حيث تصنف الأسس النوكليوتيدية الداخلة في تركيب الدنا وبحسب التشابه في بنائها الكيميائية إما ضمن مجموعة البورينات (Purines) وتضم الأدينين والغوانين، وإما ضمن مجموعة البيريميدينيات (Pyrimidines) وتضم السيتوزين والثيمين. يطلق على الطفرة مسمى الطفرة الانتقالية (Transition mutation) إذا ما تم استبدال الأدينين بغوانين أو السيتوزين بثيمين في جزيئة الدنا. وأما إذا ما حدث

استبدال نوكلّيوتيد بوريني بآخر بيريميديني أو بالعكس فتسمى الطفرة حينها بالطفرة التبادلية (Transversion mutation). وعادة ما نجد أن تكرار الطفرة من النوع الانتقالي هو أكثر حدوثاً من النوع التبادلي.

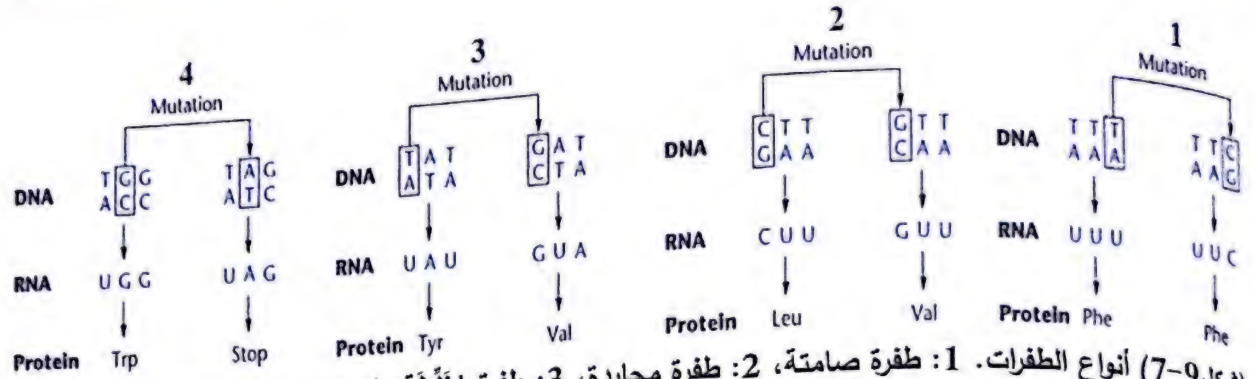
يؤدي استبدال نوكلّيوتيد بآخر ضمن المنطقة المُرْمَزة في جين ما إلى استبدال الرامز بأخرى في الرنا المرسال الذي قد يؤدي إلى إدخال حمض أميني مكان آخر في البروتين. يشير مصطلح الرامز إلى النوكليوتيدات الثلاثة في الرنا المرسال التي تحدد حمضاً أمينياً أو تحدد إيقافاً للترجمة. تعمل مجموعة النوكليوتيدات الثلاثة على مستوى الدنا كمرصاف من أجل انتساخ الرنا المرسال. تعتمد نتائج الاستبدال في رامز ما على: نوع النوكليوتيد المُستبدل ونوع الرامزة الجديدة الناتجة ومكانها في تسلسل الرنا المرسال وعوامل أخرى. وبشكل عام يمكن تصنيف الطفرات إلى: طَفْرَة صَامِتَة (Silent mutation)، طَفْرَة مُحَايِدَة (Neutral mutation)، طَفْرَة مُغَلِّطَة (Missense mutation)، طَفْرَة هُرَائِيَّة (Nonsense mutation)، طَفْرَة انْزِيَا حِ الإِطَار (Frameshift mutation)، طفرة الموقع التصفيري (Splice site mutation).

- الطَفْرَة الصَامِتَة: تدل على استبدال النوكليوتيد في رامز الدنا دون أن يكون هناك استبدال للحمض الأميني على مستوى البروتين (شكل 9-7). إذ إن عدداً من الرّوامِز في بعض الأحيان تُرمّز حمضاً أمينياً واحداً.

- الطَفْرَة المُحَايِدَة: يتم فيها استبدال نوكلّيوتيد بآخر على مستوى الدنا يتبعه استبدال حمض أميني بآخر على مستوى البروتين. لكن هذا الاستبدال لا يؤدي إلى فقد ملحوظ في وظيفة البروتين (شكل 9-7). غالباً ما نشاهد هذا الاستبدال في الجزء غير المهم وظيفياً بالنسبة للبروتين، أو إذا ما كان الحمض الأميني المُستبدل يملك خواص فيزيائية وكيميائية مشابهة للحمض الأميني الطبيعي كما هي الحال لدى استبدال الفالين (Valine) باللوسين (Leucine).

- الطَفْرَة المُغَلِّطَة: هي استبدال نوكلّيوتيد بآخر على مستوى الدنا يتبعها استبدال حمض أميني بآخر على مستوى البروتين (شكل 9-7) تعتمد خطورة الطفرة المُغَلِّطَة على طبيعة الحمض الأميني المُستبدل وفيما إذا كان هذا الحمض الأميني يشغل موقعاً مهماً في بنية البروتين أم لا. يمكن اعتبار الطفرة المُحَايِدَة طفرة مُغَلِّطَة ولكن بدون عواقب ملحوظة.

- الطَفْرَة الهُرَائِيَّة: تحدث عندما يتم استبدال نوكلّيوتيد بنوكليوتيد آخر مما يؤدي لتحول الرامز المحددة لحمض أميني ما إلى رامزة موقفة للترجمة (Codon stop) (شكل 9-7). يسبب وجود رامزة باكرة موقفة للترجمة (Premature termination codon) إلى تدرك الرنا المرسال بواسطة آلية تسمى NMD (Nonsense-Mediated Decay)، ومن ثم لن يكون هناك منتج لتلك الجين الحاملة لمثل هذه الطفرة. قد تؤدي الطفرة الهُرَائِيَّة في حالات قليلة، إذا كان مكان حدوث الطفرة في الإكسون الأخير، إلى إنتاج بروتين مبتور.



(شكل 9-7) أنواع الطفرات. 1: طفرة صامتة، 2: طفرة محايدة، 3: طفرة مُغلّطة، 4: طفرة هرائية. ترمز الأحرف الثلاثة في أسفل الشكل إلى أحماض أمينية متنوعة.

- **طفرة انزياح الإطار:** عندما يتم حذف / إقحام زوج واحد من الأسس (نوكلويد واحد) في منطقة مُرمزة في تسلسل الدنا فإن تسلسل (ثلاثيات) الرامزة التالية لمنطقة الحذف أو الإقحام سيتغير وسيُنتج لدينا تسلسل جديد من الأحماض الأمينية على مستوى البروتين لا تشبه أبداً البروتين الأصلي (شكل 9-8). يدعى هذا النوع من الطفرات بطفرة انزياح الإطار. ينشأ في هذا النوع من الطفرات عاجلاً أم آجلاً طفرة هرائية بعد مكان الحذف / الإقحام تؤدي كما ذكرنا سابقاً إلى إنتاج بروتين مبتور (شكل 9-9). تملك طفرة انزياح الإطار تأثيراً مريعاً بالنسبة لوظيفة البروتين حيث تؤدي إلى تصنيع بروتين مبتور ومختلف عن ذاك الطبيعي. إذا ما حدثت الطفرة قرب النهاية الكربوكسيلية للبروتين فقد يحتفظ البروتين الجديد الناشئ ببعض الفعالية الحيوية.

- **طفرة الموقع التضفييري:** تعتمد إزالة الإنترونات من تسلسل الرنا المرسل الأولي (Primary mRNA) على وجود نوكلويدات معينة في مواقع محددة تُدعى مواقع التضفير (Splice site). يتألف موقع التضفير 5' من النوكليتيدين gt، ويقع في بداية الإنترون بعد الإكسون. يتألف موقع التضفير 3' من النوكليتيدين ag ويقع في نهاية الإنترون قبل الإكسون (شكل 9-4). تعتمد عملية التضفير بشكل كبير على هذه المواقع، فإذا ما تغير تسلسل تلك النوكلويدات في مواقع التضفير بسبب طفرة فإن آلية التضفير سوف تخطئ وسيحدث تضفير غير طبيعي للرنا المُنتسخ. فمثلاً إذا ما حدثت طفرة في الموقع التضفييري 3' فإن آلية التضفير قد تخطئ هذا الموقع إلى الموقع الذي يليه وسيتم حذف كامل الإكسون المحاط بالإنترونين من الرنا المُنتسخ والنتيجة النهائية هي رنا مرسل منقوص الإكسون (شكل 9-10). يسمى هذا الشكل الشاذ من عملية التضفير بتخطي الإكسون (Exon skipping).

وبشكل مماثل إذا ما حدثت طفرة في الموقع التضفييري 5' فإن آلية التضفير قد تتجاهل هذا الموقع مما يؤدي إلى إبقاء الإنترون في الرنا المُنتسخ الناضج، والنتيجة النهائية هي رنا مرسل يحوي إنتروناً كجزء منه (شكل 9-10).

A: الحالة الطبيعية. نلاحظ تسلسل الأحماض الأمينية حسب الروامز الموافقة.

	TTA	TTT	CGT	TGG	TGT	GTA	CCC	GGG
DNA	AAT	AAA	GCA	ACC	ACA	CAT	GGG	CCC
RNA	UUA	UUU	CGU	UGG	UGU	GUA	CCC	GGG
Protein	Leu	Phe	Arg	Trp	Cys	Val	Pro	Gly

B: طفرة انزياح الإطار ناجمة عن إقحام زوج من الأسس. نلاحظ تغير تسلسل الأحماض الأمينية بسبب تغير الروامز في الدنا والرنا المرسال.

	TTT	ATT	TCG	TTG	GTG	TGT	ACC	CGG	G
DNA	AAA	TAA	AGC	AAC	CAC	ACA	TGG	GCC	C
RNA	UUU	AUU	UCG	UUG	GUG	UGU	ACC	CGG	G
Protein	Phe	Ile	Ser	Leu	Val	Cys	Thr	Arg	

C: طفرة انزياح الإطار ناجمة عن حذف زوج من الأسس. نلاحظ تغير تسلسل الأحماض الأمينية بسبب تغير الروامز في الدنا والرنا المرسال.

	TTT	TTC	GTT	GGT	GTG	TAC	CCG	GG
DNA	AAA	AAG	CAA	CCA	CAC	ATG	GGC	CC
RNA	UUU	UUC	GUU	GGU	GUG	UAC	CCG	GG
Protein	Phe	Phe	Val	Gly	Val	Tyr	Pro	Gly

(شكل 9-8) رسم يوضح نتائج طفرة انزياح الإطار.

A: حالة بروتين طبيعي. نلاحظ تتالي الأحماض الأمينية بشكل موافق للروامز في الرنا المرسال.

	TTA	CCG	GTA	ATG	TGG	GTA	CCC	GGG
DNA	AAT	GGC	CAT	TAC	ACC	CAT	GGG	CCC
RNA	UUA	CCG	GUA	AUG	UGG	GUA	CCC	GGG
Protein	Leu	Pro	Val	Met	Trp	Val	Pro	Gly

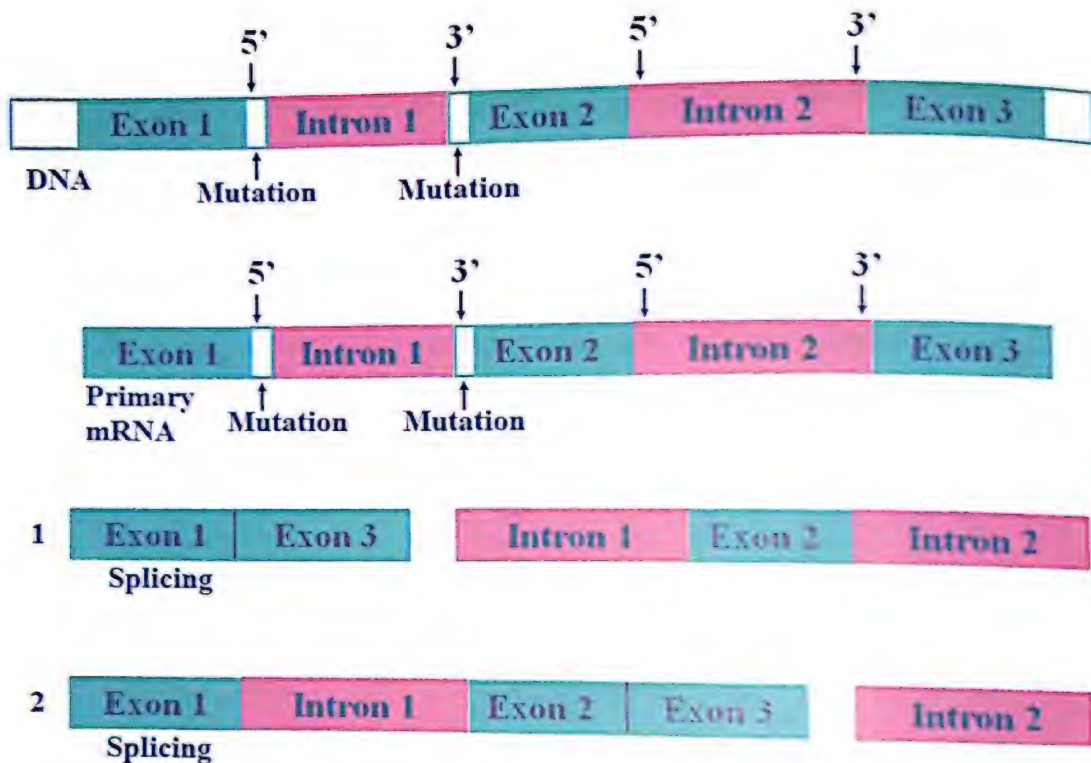
B: حالة حدوث طفرة انزياح الإطار وتشكل الرامزة الموقفة للترجمة (UAA) بشكل مبكر. نلاحظ تغيراً في تسلسل الأحماض الأمينية قبل توقف الترجمة عند الرامزة (UAA).

	TTC	CGG	TAA	TGT	GGG	TAC	CCG	GG
DNA	AAG	GCC	ATT	ACA	CCC	ATG	GGC	CC
RNA	UUC	CGG	UAA	UGU	GGG	UAC	CCG	GG
Protein	Phe	Pro						

(شكل 9-9) يوضح إنتاج بروتين مبتور نتيجة حدوث طفرة من نوع انزياح الإطار.

وفي كلتا الحالتين عندما تحدث الطفرات في المواقع 5' و 3' فإن الرنا المرسال الناضج سيحتوي على تسلسل غير ذاك المُرْمَز للبروتين الحقيقي.

يمكن أن تؤدي الطفرات إلى خلق مواقع تفسيرية إضافية جديدة مما قد يتسبب في إدخال جزء من الإنترون أو حذف جزء من الإكسون في تسلسل الرنا المرسال، يتبعه انزياح في إطار القراءة وفي نهاية المطاف سينتج ذاك البروتين الشاذ والمبتور.



(شكل 9-10): عقابيل تأثير الطفرات في المواقع التفسيرية 3' و 5' على عملية التفسير التي يخضع لها الرنا المرسال الأولي. (1) قد تؤدي الطفرة في موقع التفسير 3' إلى خطأ في التفسير وفقد للإكسون الثاني. (2) قد تؤدي الطفرة في موقع التفسير 5' إلى خطأ في التفسير وكسب للإنترون الأول.

3.9.2.1 تصنيف الطفرات بناءً على تأثيرها

تصنف الطفرات بناءً على تأثيرها في الخلية أو على النمط الظاهري للكائن الحي إلى:

- **طفرة فقد الوظيفة (Loss-of-function mutation):** يُقصد بها إصابة الجين بأي نوع من الطفرات التي ذكرناها سابقاً، وتؤدي إلى تناقص وظيفة منتج تلك الجين أو حتى زوال الوظيفة نهائياً. وفي حال زوال الوظيفة بالكامل يطلق على الطفرة مسمى Null mutation. قد يؤدي النقص في كمية منتج أحد الأليلين في الكائنات الحية الضِعْفَانِيَّة (Diploid)، على افتراض أن

كل أليل ينتج 50% من البروتين المُرَّمَز بتلك الجين، إلى عدم ظهور النمط الظاهري البرّي (Wild-type phenotype) أو ما يسمى بقصور الفردانية (Haploinsufficiency).

- طفرة كسب الوظيفة (Gain-of-function mutation): هي طفرة تؤدي إلى إنتاج بروتين جديد ذي فعالية أكبر أو مغايرة للبروتين الأصلي. أو طفرة تصيب المنطقة المنظمة للجين مما يؤدي إلى زيادة في التعبير عن تلك الجين ومن ثم إنتاج بروتين بكميات أكبر من المستوى الطبيعي، أو إنتاج بروتين في فترات زمنية غير ملائمة.

- الطفرة السائدة السلبية (Dominant-negative mutation): تصيب الطفرة أحد الأليلين ولكن الذي يحدث أن المنتج البروتيني الطافر لا يعمل بمفرده، فإما أنه يرتبط مع منتج الأليل الثاني الطبيعي وومن ثم يُنقص من فعاليته، أو أنه يدخل في ارتباطات مع بروتينات أخرى ومن ثم يُنقص من فعاليتها (شكل 9-11).

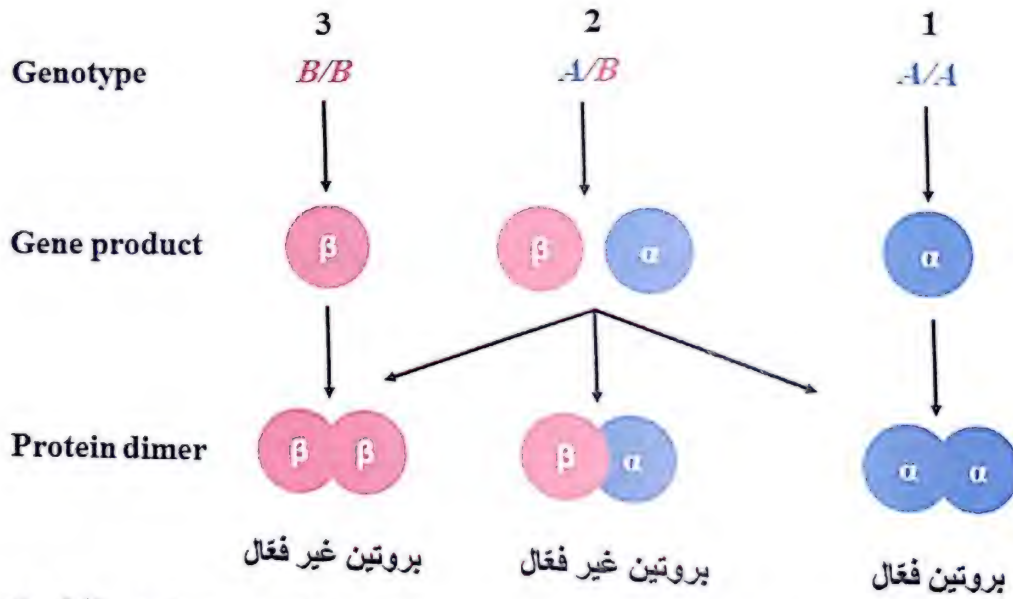
- الطفرة المميتة (Lethal mutation): يحدث أن تسبب الطفرة توقفاً لعملية حيوية أساسية لحياة الكائن الحي مما يؤدي إلى موته. تُلاحظ مثل هكذا طفرات في المرحلة الجنينية.

2.3.9. مفهوم السيادة والتنحي للطفرات وعلاقته بالأمراض الوراثية

إن التنحي والسيادة هما صفتان للنمط الظاهري وليس للجين مع أنه من الشائع استخدام هاتين الصفتين لوصف الجينات. تملك معظم الطفرات تأثيراً متنحياً، أي أن الأشخاص لديهم أليل سائد فعال وأليل منتج غير فعال، وومن ثم تُصطنع كمية مناسبة من منتج الجين الوظيفي ويبقى النمط الظاهري طبيعياً. أما في حال كان الأشخاص مُتَمَثَلِي الألائل (Homozygous) أي لديهم أليلان طافران أو متنحيان، فإن غياب منتج الجين الوظيفي سيؤدي إلى ظهور نمط ظاهري شاذ. يوجد كثير من الأمراض الوراثية التي هي بالأساس ناجمة عن أليل واحد سائد. ومن هنا يُطرح السؤال التالي: كيف يمكن لأليل واحد أن يسبب تأثيراً مؤدياً في ظل وجود أليل آخر طبيعي؟ يمكن الإجابة عن هذا السؤال من عدة محاور:

- إن الطفرة التي تغيّر من كمية المنتج لجين ما زيادةً أو نقصاناً عندما تكون كامل أو معظم كمية ذلك المنتج مطلوبة من أجل الحصول على فعالية طبيعية في الخلية تملك تأثيراً سائداً. يمكن للطفرات أنواعها المختلفة التي ذكرناها سابقاً أن تقلل من المنتج الوظيفي للجين. كما قد تنقص التغيرات الجينية الحاصلة في العناصر التي تؤثر في تعبير الجين من معدل الانتساخ والنتيجة خفض المنتج الوظيفي للجين. نذكر أيضاً حذف الأليل الكامل (Null allele) وفي هذه الحالة فإن الأشخاص متخالفي الألائل (Heterozygous) سيكون لديهم نصف كمية المنتج الجيني مقارنة بالأشخاص الذين يملكون أليلين طبيعيين. وفي حالات أخرى قد تسبب التغيرات الجينية في العناصر المؤثرة في انتساخ الجين زيادة في الانتساخ وفي كمية المنتج الوظيفي.

- قد نحصل على التأثير السائد عندما تؤدي الطفرة لاصطناع منتج جديد يملك تأثيراً ضاراً.
- تتألف بعض البروتينات الفعالة من اتحاد وُحَيَّات عدة (Multiple subunits). قد تُرمَّز هذه الوُحَيَّات من قبل موقع جيني واحد أو من من قبل عدة مواقع جينية. هنا تعزى الحالة السائدة إلى وجود طفرة في إحدى الوُحَيَّات، ومما سيؤثر بشكل مباشر في وظيفة البروتين الداخلة في تكوينه. وبحساب نظري لدى الشخص متخالف الألائل فإن الأليل الطبيعي سينتج بروتيناً طبيعياً والأليل الطافر سينتج بروتيناً طافراً، ولدى اجتماع بعضهما مع بعض ليكونا البروتين الوظيفي فإن ما نسبته أقل من 50 % فقط سيشكل البروتين الوظيفي الفعال (شكل 9-11).
- قد ينجم التأثير الضار بسبب طفرة في أليل يُنتج بروتيناً شاذاً لا يتدرك بسهولة أو لا ينحل في الماء، ومن ثم فإن تراكمه في الخلية سيؤدي بالضرورة إلى أذيته.
- تؤدي بعض حوادث الإزفاء ما بين الصبغيات إلى اندماج جزأين من جينتين مختلف بعضهما عن بعض لينجم عنه بروتينٌ خيمريّ (Chemiric protein) يملك وظائف مختلفة عن تلك الطبيعية لكلا منتجي الجينتين.



(شكل 9-11): مثال عن التأثير السائد السلبي. (1) شخص نمطه الجيني الطبيعي A/A ينتج وُحَيَّات (Subunits) طبيعية (α) تشكل لدى اجتماع بعضها مع بعض بروتين فعال مكون من مثلي (Dimer). (2) شخص نمطه الجيني متغاير الألائل A/B، إذ يُمثَّل الأليل B الأليل الطافر. يُنتج الأليل B وُحَيَّات طافرة (β). تشكل الوُحَيَّات لدى اجتماع بعضها مع بعض إما بروتيناً فعالاً مكوناً من مثلي (α, α)، وإما بروتيناً غير فعال مكوناً من اجتماع وُحَيَّتين (α) و (β)، وإما بروتيناً غير فعال مكوناً من اجتماع وُحَيَّتين (β). (3) شخص نمطه الجيني متماثل الألائل B/B ينتج وُحَيَّات طافرة (β) لا يتشكل لديه إلا بروتينات غير فعالة. نستنتج أن البروتين β منتج الأليل B الطافر هو المسؤول عن التأثير السائد السلبي (Dominant)

(negative effect) لأن نسبة البروتين الفعال نظرياً أقل من 50 % وهي غير كافية لإنتاج نمط ظاهري طبيعي.

3.3.9. التسمية الاصطلاحية للطفرات

لقد أتاح توفر التسلسل الكامل لكل من الجينات الطبيعية منها والطافرة وتسلسل البروتينات الفرصة لوضع نظام عام وموجز من أجل تسمية الطفرات وتمييزها عن التسلسل الطبيعي على مستوى جزيئ الدنا والبروتين.

تمت تسمية وترقيم البروتين ابتداءً من الحمض الأميني الأول في السلسلة الببتيدية وهو الميثيونين (Methionine) وانتهاءً بالحمض الأميني الأخير في النهاية الكربوكسيلية من السلسلة نفسها.

وأما ترقيم النوكليوتيدات في جزيئ الدنا أو الرنا المُنْتَسَخ فهو ليس بالوضوح الذي عليه بالنسبة لجزيئ البروتين، ذلك أن النوكليوتيد الأول (ذا الرقم +1) في بداية الانتساخ ليس هو دائماً النوكليوتيد الأول المترجم. كما يجب التمييز بين النوكليوتيدات الموجودة في الإكسونات وتلك الموجودة في الإنترونات. تحمل عادةً النوكليوتيدات أرقاماً تسلسلية ابتداءً بالرقم +1 للنوكليوتيد الأول المُنْتَسَخ حتى آخر نوكليوتيد في الإكسون الأول. ثم تعطى بقية النوكليوتيدات في الإكسونات الباقية في الجين أرقاماً تسلسلية.

تعطى الإنترونات في ترقيما رقمين اثنين، إذ يشير الأول إلى رقم النوكليوتيد في الإكسون في المنطقة المُرْمَزة والرقم الثاني إلى رقم النوكليوتيد في الإنترون الذي يليه. مثلاً يشير الرقم 100 + 7 إلى النوكليوتيد السابع في الإنترون الذي يلي النوكليوتيد رقم 100 في المنطقة المُرْمَزة. وقد تستخدم إشارة (-) في بعض الأحيان للدلالة على موقع النوكليوتيد في الإنترون الذي يسبق موقع النوكليوتيد في المنطقة المُرْمَزة. مثلاً يشير الرقم 201-12 إلى النوكليوتيد 12 في الإنترون الذي يسبق النوكليوتيد رقم 201 في المنطقة المُرْمَزة.

يشار إلى الطفرة في المنطقة المُرْمَزة بحروف وأرقام.

- طفرة الاستبدال: يدل الرمز التالي: $T \leftarrow A$ عند 279 على أن نوكليوتيد الأدينين في الجين الطبيعية في الموقع 279 قد تم استبداله بالثيمين في الجين الطافرة. بقي أن نذكر أن الترقيم هذا يُعطى فقط للطاق المُرْمَز. كما يمكن أن يستعمل جزء من اسم الجين لدى استخدام الترقيم. مثلاً يعني الرمز $FGFR3*1138A$ أن هذا الأليل من تلك الجين يملك الأدينين في الموقع 1138.

- طفرات إنزياح الإطار: يُعبّر عنها على مستوى الدنا وليس على مستوى البروتين. يُشير الرمز 351delAT إلى أن خَبناً del حدث في المنطقة المُرْمَزة للجين طال الأدينين في الموقع 351 والنوكليوتيد التالي له وهو الثيمين. يشير الرمز 106insT إلى أن ثمالة ثيمين قد أُفحمت بعد النوكليوتيد الحامل للرقم 106. إذا ما كان الخَبن أو الإحكام الحاصل كبيراً عندها تستخدم أرقام

للدلالة على مدى التغيير الحاصل، مثلاً: 109del27 تعني أن 27 نوكليوتيداً (أو 27bp) حذفت بعد النوكليوتيد ذي الرقم 109.

- الطفرات التي تصيب مواقع التصفير: يشير الرمز $G \rightarrow T + 5IVS20$ إلى أن النوكليوتيد تبدل من غوانين إلى ثيمين عند الموقع 5 من الإنترون 20 (IVS: intervening sequence = intron)، أو قد يُستعمل الرمز التالي للدلالة على الحالة السابقة الذكر $711 + 5G \rightarrow T$ والذي يعني أن النوكليوتيد الخامس من الإنترون الذي يتبع النوكليوتيد 711 في المنطقة المُرمّزة قد تبدل من غوانين إلى ثيمين.

تتطلب تسمية الطفرات على مستوى البروتين ثلاثة عناصر: الحمض الأميني الأصلي ويُطلق عليه رمز من حرف واحد، موقع الحمض الأميني المصاب، الحمض الأميني الجديد (المُستبدل)، ويُرمز له بحرف وحيد.

- طفرة الاستبدال: يدل الرمز D89G أن الطفرة أدت لاستبدال حمض الأسبارتيك (Aspartic acid) بالجليسين (Glycine) عند موضع الحمض الأميني 89 في البروتين. كما يمكن استخدام الرمز ثلاثي الأحرف للدلالة على اسم الحمض الأميني لتصبح التسمية في المثال السابق Asp89Gly.

- الطفرة الهوائية: يُشار إليها بالرمز X ، مثلاً يشير الرمز R81X أو Arg81X إلى أن الرامز الذي يرمز الحمض الأميني أرجينين في الموقع 81 قد أصيب بطفرة حولته إلى رامز توقف. وقد يستعمل الرمز ter بدلاً من X في بعض الحالات للدلالة على رامز التوقف مثل: G136ter أو Gly136ter.

الفصل العاشر

التشوهات (الزيوغ) الصبغية

Chromosome Abnormalities (Aberrations)

المحتويات Contents

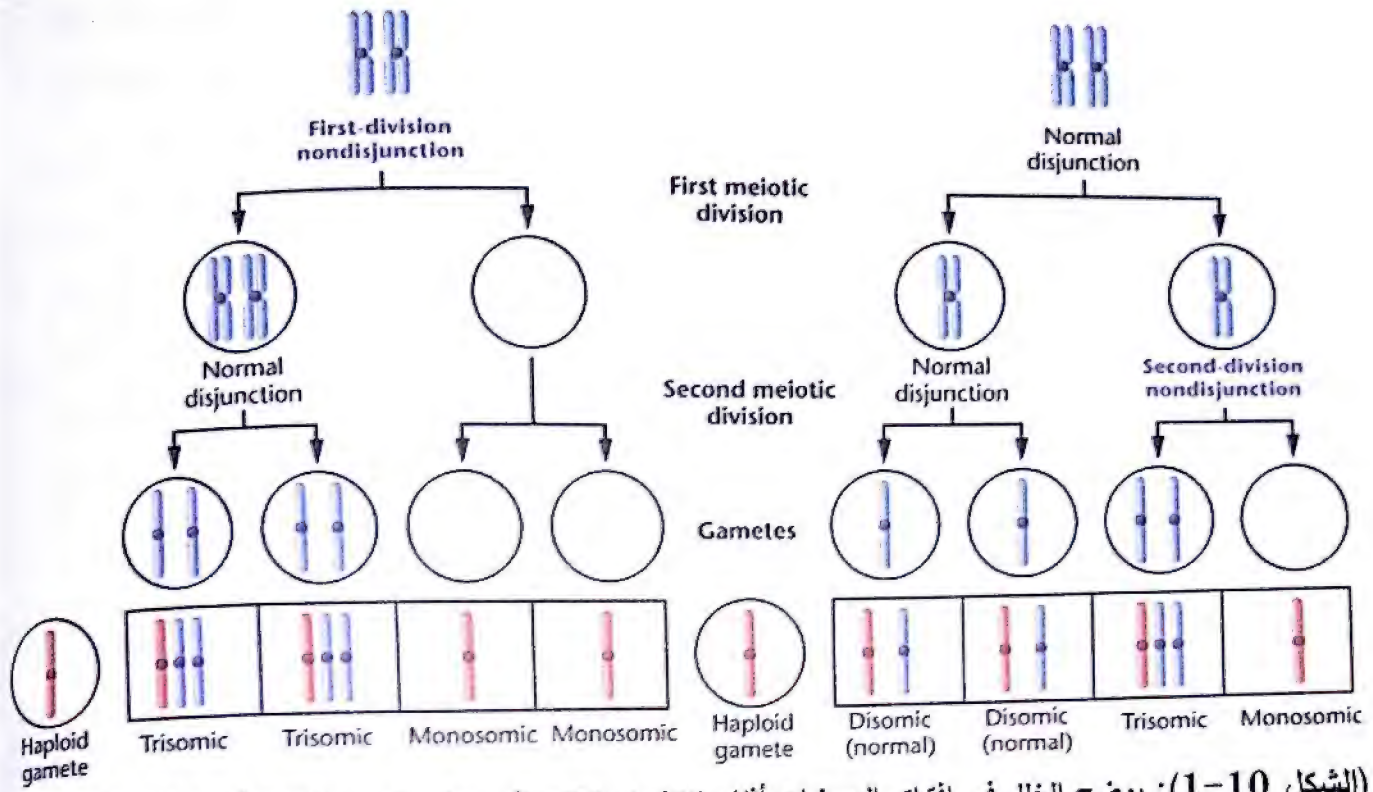
- | | |
|---|------------------|
| 1.10. التشوهات العددية أو اختلال الصيغة الصبغية | 1.2.10. الخن |
| 1.1.10. تثلث الصبغيات الجسدية | 2.2.10. التضاعف |
| 2.1.10. تثلث الصبغيات المحددة للجنس | 3.2.10. الانقلاب |
| 3.1.10. أخاذية الصبغيات المحددة للجنس | 4.2.10. الإزفاء |
| 2.10. التبدلات الصبغية البنيوية | |

1.10. التشوهات العددية أو اختلال الصيغة الصبغية (Aneuploidy)

قد تحدث أخطاء في توزيع الصبغيات خلال الانقسام الفتيلي أو الانقسام الانتصافي مفضياً ذلك إلى ظهور خلايا ينقصها صبغي أو يفيض عنها صبغي. لا تواصل عادةً الخلايا الجسدية ذات الاختلال في الصيغة الصبغية الحياة، وقد تتطور أحياناً إلى خلية سرطانية (Cancer cell) الشكل (1-10). تعد الأعراس الحاملة لأقل أو أكثر من 23 صبغياً مسؤولة عن تشكيل زيجيت مختلة الصيغة الصبغية (Aneuploid zygotes). يُطلق على الزيادة في صبغي ما تثلث صبغية (Trisomy)، ويسمى نقص أحد الصبغيات أحاد الصبغية (Monosomy). يعيق في معظم الحالات نقص أو زيادة أحد الصبغيات تطور الجنين في الرحم بشكل ملحوظ وقد يؤدي لخسارته. وقد تكمل الزيجوت مختلة الصيغة الصبغية التطور حتى الولادة، ولكن يتسبب ذلك في طيف واسع من الأعراض تشمل التشوهات الفيزيائية (Physical abnormalities) والتخلف العقلي (Mental retardation).

1.1.10. تثلث الصبغيات الجسدية (Autosomal trisomy):

- متلازمة تثلث الصبغية 21 (Trisomy 21) أو متلازمة داون (Down syndrome). تُكتب الصيغة الصبغية لأنثى حاملة لهذا التثلث على الشكل التالي: $47,XX,+21$ ، أما الذكر فتكتب كالتالي: $47,XY,+21$. تصاحب متلازمة تثلث الصبغية مجموعة من الأعراض منها: تخلف عقلي، تأخر في النمو، قصر في العظام، وجه مميز كبير ومسطح مع أنف صغير وطيّة جفن مميزة. يبلغ تكرار (Frequency) متلازمة داون نحو 1 لكل 800 مولود حي. ويزداد هذا الرقم مع تقدم المرأة الحامل بالعمر ليصل إلى 5 في المئة عند بلوغ المرأة الحامل 40 ربيعاً. تحسّن مأمول الحياة (Life expectancy) للمصابين بمتلازمة داون خلال العقود الأخيرة ليصل في حالات عديدة إلى 40 عاماً أو أكثر. انظر الشكلين (2-10) و (3-10).



(الشكل 10-1): يوضح الخلل في افتراق الصبغيات أثناء الانقسام الانتصافي. على اليمين نلاحظ أن الخلل بدأ في الانقسام الانتصافي الثاني مما أدى إلى تشكيل أعراس على التوالي: خالية من الصبغي (الأزرق في الصورة)، حاملة لصبغيين، اثنان طبيعيان يحمل كل واحد منهما صبغياً واحداً. لدى الاقتران بعرس آخر طبيعي يحمل صبغياً واحداً (البرتقالي في الصورة) ستكون النتيجة إما: زيجوت أحادية الصيغة (Monosomic) أو زيجوت ثلاثية الصيغة (Trisomic) أو زيجوتين طبيعيتين (Disomic). على اليسار نلاحظ أن الخلل بدأ في الانقسام الانتصافي الأول مما أدى إلى توليد نصف الأعراس خالية من الصبغي والنصف الآخر أعراس حاملة لصبغيين. ولدى الاقتران بعرس آخر طبيعي يحمل صبغياً واحداً ستكون النتيجة إما: زيجوتين كل واحدة منهما أحادية الصيغة وإما زيجوتين كل واحدة منهما ثلاثية الصيغة.

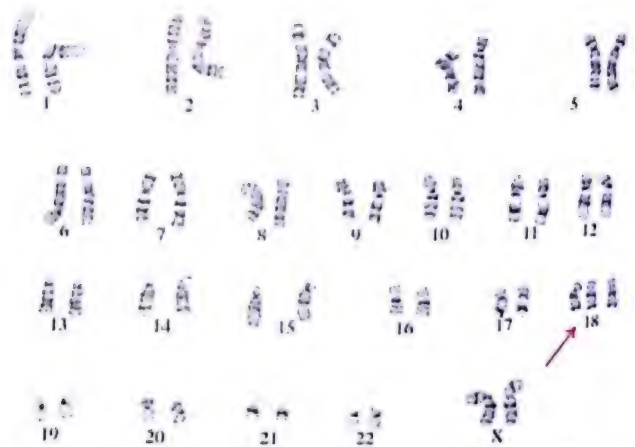
- **مُتَلَاَزِمَةُ ثَلَاثِ الصَّبْغِيِّ 18** تسمى بمتلازمة إدوارد (Edwards syndrome). تصيب هذه المتلازمة 1 من بين كل 8000 مولود حي، مع العلم أن 5% فقط من الزيجات الحاملة للصبغي 18 الزائد تتابع الحمل حتى الولادة. تُكْتَبُ الصيغة الصبغية لأنثى مصابة بمتلازمة إدوارد على الشكل التالي: $47,XX,+18$ ، أما الذكر فتُكْتَبُ صيغته كما يلي: $47,XY,+18$. يُبْدِي الأطفال المصابون بمتلازمة إدوارد تشوهات وخيمة (Severe abnormalities) عند الولادة منها: تشوهات في القلب، صِغَرُ الرَّأْسِ أو صِغَل (Microcephaly)، صِغَرُ الْمُقَلَّة (Microphthalmia)، تأخر نمو وخيم (Severe growth retardation)، تشوهات كلوية وهضمية وعظمية وغدية وورثوية، تخلف عقلي. يموت الأطفال المصابون قبل السنة الأولى من عمرهم، وقد يعيش ثلثهم للعشرين من العمر الشكل (10-4).



(الشكل 10-2): النمط النووي للفتاة المصابة بمتلازمة داون، ويظهر فيها زيادة عددية في الصبغي

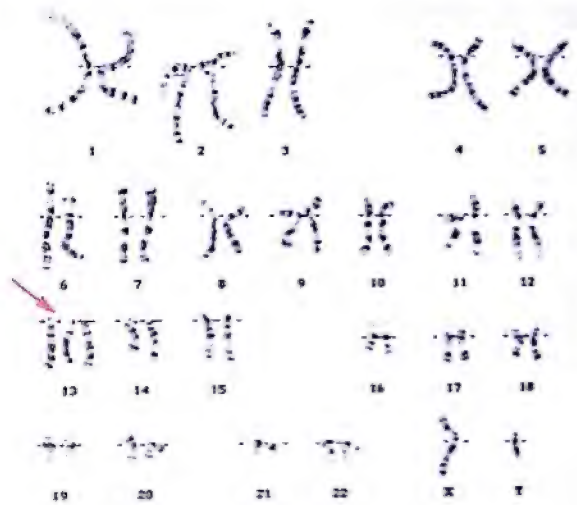
21.

(الشكل 10-3): صورة لفتاة مصابة بمتلازمة داون مع أختها غير المصابة. نلاحظ لدى المصابة جسر الأنف المسطح (Flat nasal bridge)، بروز اللسان (Protruding tongue)، تباعد العينين (Hypertelorism).



(الشكل 10-4): على اليمين النمط النووي لأنثى مصابة بمتلازمة إدوارد ويظهر فيه زيادة عددية في الصبغي 18. على اليسار طفلة مصابة بمتلازمة إدوارد تظهر عليها الأعراض التالية: عينان صغيرتان (Small eyes)، صغر وتراجع فك (Micro retrognathia)، تشوه وتوضع سفلي للأذنين (Low-set/malformed ears).

- متلازمة تثلث الصبغي 13 وتسمى بمتلازمة باتو (Patau syndrome). تصيب هذه المتلازمة 1 من بين كل 25000 مولود حي. تُكتَب الصيغة الصبغية لأنثى مصابة بمتلازمة باتو على الشكل التالي: $47,XX,+13$ ، أما الذكر فتُكتَب صيغته كالتالي: $47,XY,+13$. تسبب هذه المتلازمة تشوهات: وعائية قلبية (Cardiovascular) مثل العيوب في الحاجز البطيني والأذيني (Ventricular and atrial septal defect)، عينية (Ocular)، هيكلية (Skeletal)، تناسلية بولية (Genitourinary)، قحفية وجبهية (Craniofacial)، بالإضافة لتخلف عقلي وخيم، لذا يموت غالبية المواليد في الشهر الأول من الولادة، وقلة منهم يتابعون حياتهم لأكثر من 12 شهراً الشكل (5-10).



(الشكل 5-10): على اليمين النمط النووي لذكر مصاب بمتلازمة باتو، ويظهر فيها زيادة عديدة في الصبغي 13. على اليسار طفل مصاب بمتلازمة باتو تظهر عليه الأعراض التالية: صغر الرأس، صغر المقلة، ورم وعائي جبهى (Forehead hemangioma)، الشفة / الحنك المشقوق (Cleft lip/ palate)، كثرة الأصابع (Polydactyly).

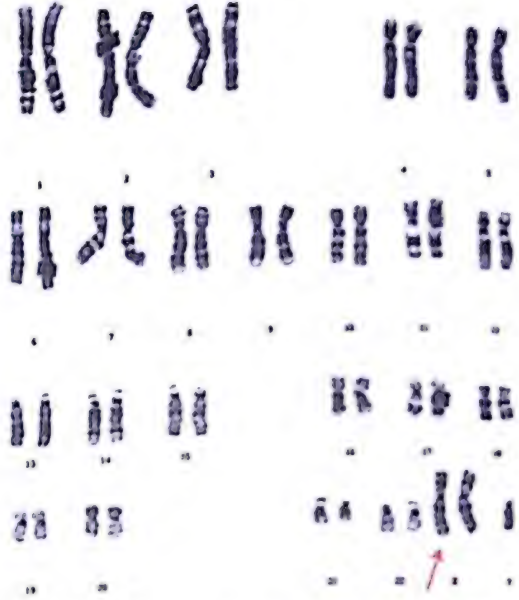
- تثلث الصبغي 9 نادر جداً يموت غالبية المواليد في السنة الأولى بعد الولادة بسبب تشوهات وخيمة تشمل الكثير من الأعضاء: العين، والأنف، والأطراف، وأعضاء أخرى.

2.1.10. تثلث الصبغيات المحددة للجنس (Sex chromosome trisomy):

يسبب وجود صبغي محدد للجنس زائد تأثيرات سريرية وحيوية أقل ضرراً من تلك الملاحظة في تثلثات الصبغيات الجسدية (Autosomal trisomy). نعدد من هذه التثلثات:

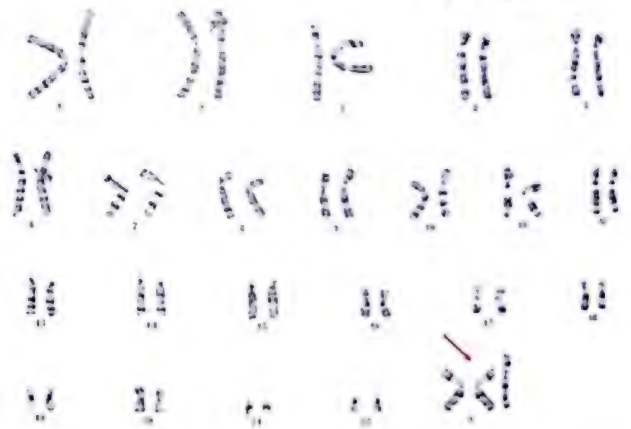
- متلازمة كلينفيلتر (Klinefelter syndrome) تشاهد لدى الذكور بتكرار 1 من كل 600 وتكون الصيغة الصبغية لديهم: $47,XXY$. الرجل الحامل للصبغي X الزائد عقيم (Infertile) بسبب عدم قدرته على إنتاج النطاف. وتتنوع الأعراض لدى المصابين بهذه المتلازمة ما بين

طول للقامة غير المتناسق (أطراف وأذرع طويلة ويديين كبيرتين)، وقد تلامس هذه المتلازمة قدراتهم الذهنية (Mental capabilities) دون الجنسية منها. الشكل (6-10).



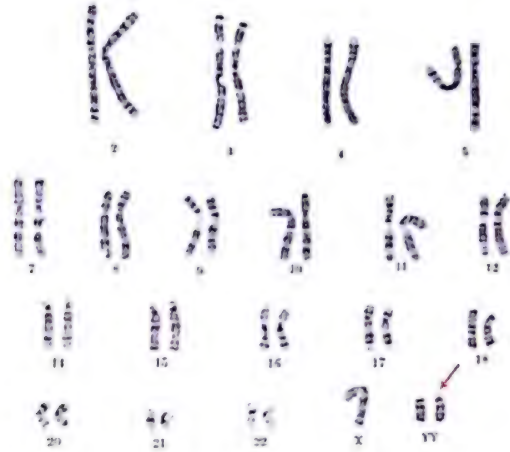
(الشكل 6-10): على اليمين النمط النووي لذكر مصاب بمتلازمة كلينفيلتر، ويظهر فيها زيادة عددية في الصبغي X. على اليسار طفل مصاب بالمتلازمة يدي نمطاً ظاهرياً طبيعياً.

تثلث الصبغي X (Trisomy X) نجده في واحدة من بين كل 1000 أنثى. تكتب صيغتها الصبغية على النحو التالي: 47,XXX. لا يوجد مجموعة مميزة من الأعراض تصاحب هذا التثلث. ذكر أن كثيراً من الفتيات الحاملات للصبغي X الزائد يعانين مشاكل في التعليم (الشكل 7-10).



(الشكل 7-10): على اليمين النمط النووي لأنثى لديها تثلث في الصبغي X. على اليسار طفلة لديها تثلث X وتبدي نمطاً ظاهرياً طبيعياً.

- الصَّبْغِيُّ Y الزائد نجده في واحد من بين كل 1000 ذكر وتكون صيغته الصبغية 47,XY. توجد علامات حيوية مميزة لوجود هذا الصبغي الزائد، ويكون المصابون طبيعيين من ناحية الخصوبة والذكاء مع طول القامة وميل للعدوانية الشكل (8-10).



(الشكل 8-10): على اليمين النمط النووي لذكر لديه زيادة في الصبغي Y. على اليسار صورة لطفل عمره 13 عاماً لديه زيادة عديدة في الصبغي Y ويبدو نمطاً ظاهرياً طبيعياً.

ذكر وجود حالات تحمل الكثير من الصبغيات المحددة للجنس مثل: 48,XXYY و 48,XXXY، ولكنها تبقى نادرة الحدوث. يعاني الأفراد الحاملين لأكثر من صبغي واحد محدد للجنس عقماً وتخلفاً عقلياً واضحاً مقارنةً بأولئك الذين يحملون صبغياً واحداً محدداً زائد للجنس. مع التنويه إلى أن النتائج غالباً ما تكون متوسطة الخطورة لدى تعلق الأمر بوجود صبغي X زائد، ويُعَلَّل ذلك بوجود آلية تثبط التعبير الجيني لمعظم الجينات الموجودة على الصبغي X الزائد. يجب التنويه هنا أيضاً إلى عدم وجود آلية مماثلة تقوم بتثبيط الجينات الموجودة على أي صبغي جسدي زائد، ولهذا تكون الجينات الموجودة على الصبغيات الثلاثة فعالة.

3.1.10. أحادية الصَّبْغِيَّات المحددة للجنس (Sex chromosome monosomy)

ذُكرت حالة وحيدة لأحادية الصَّبْغِيَّي المحدد للجنس هي أحادية الصبغي X، وتدعى بمتلازمة تيرنر (Turner's syndrome). تكون الصبغة الصبغية للفتيات الحاملات للنقص في الصبغي X هي: 45,X. تتصف الإناث الحاملات لهذه المتلازمة بالعقم (النفاذ الباكر للجريبات) وقصر القامة. ويمكن أن نلمس كثيراً من الصفات الفيزيائية (Physical features) لدى هؤلاء النسوة مثل الرقبة الثخينة، وقد تعاني بعض منهن تشوهات كلوية وقلبية وعائية. تختلف المراجع في وجود تأثيرات لغياب الصبغي X

على الذكاء، مع العلم أن قدرات الإدراك الفراغي (Spatial perception) والمهارات الحركية (Motor skills) قد تتأثر (الشكل 9-10).



(الشكل 9-10): على اليمين النمط النووي لأنتى مصابة بمتلازمة تورنر. على اليسار طفلة لديها متلازمة تورنر تبدي الأعراض التالية: (Short stature)، رقبة وُترَاء (Webbed neck)، الصدر الدرعي (Shield-like chest)، خلمات متباعدة (Widely spaced nipples).

- لم تذكر أي حالة في الأدبيات الطبية عن وجود أحاد الصبغي Y (Y, 45) لدى مولود حي. نذكر في النهاية أن اختلال الصبغة الصبغية بنوعيتها زيادةً أو نقصاناً قد لا تحدث في جميع الخلايا لدى شخص ما، وإنما في مجموعة من الخلايا دون أخرى، تدعى هذه الحالة الفُسيفسائية أو التزيق (Mosaicism). تملك الحالة الفسفيسائية تأثيراً حيوياً ملموساً، ولكن مع ذلك تسبب أعراضاً أقل وخامةً من تلك المشاهدة لدى أشخاص يحملون الاختلال في الصبغة الصبغية في جميع خلاياهم.
- قد تحدث حالة الفسفيساء بسبب خلل في الانقسام القَيْلِيّ أثناء تطور الزيجوت ونكون أمام حالتين:
 - قد تكون الزيجوت ذات صبغة صبغية مختلة ليحدث تصحيح، وتنشأ عنها خلية ذات صبغة صبغية طبيعية، ويحدث ذلك في المراحل المبكرة من تطور الزيجوت.
 - يحدث الخلل في زيجوت تحمل صبغة صبغية طبيعية مؤدياً لنشوء خلية ذات صبغة صبغية مختلة.

في كلتا الحالتين إذا ما حدث الاختلال في الصبغة الصبغية في مراحل مبكرة من الحمل فإن الحالة الفسفيسائية ستطال كثيراً من الأنسجة والأعضاء في الجسم. أما إذا حدث الخلل في الانقسام القَيْلِيّ في مراحل متأخرة من الحمل فإن قلة من الأعضاء أو الأنسجة ستصاب بهذا الخلل، وربما يكون التأثير الحيوي لهذا الخلل ضئيلاً.

2.10. التبدلات الصبغية البنيوية (Chromosome Structural Changes)

تحدث التبدلات الصبغية البنيوية عندما ينكسر جزيء الدنا ويضيع الجزء المكسور، أو عندما ينكسر جزيء الدنا ثم يعاود الالتحام في مكان آخر غير مكانه الطبيعي مما يؤدي لإعادة ترتيب غير طبيعي للجينات. قد تحدث هذه التبدلات لخلل في الدورة الخلوية أثناء عملية تضاعف الدنا، أو أثناء حادثة التَّعَابُر (Crossing over). كما قد تساهم عوامل محيطية وبيئية في إحداث تكسّر للصبغيات كأشعة X أو الأشعة فوق البنفسجية أو المواد الكيميائية المُطَفِّرَة (Mutagen).
قد يصيب التبدل البنيوي صبغياً واحداً أو أكثر، ويمكن أن تُصنَّف التبدلات الصبغية البنيوية في مجموعات رئيسية أربع:

1.2.10. الخَبْن (Deletion):

يحدث هذا النوع من التشوه في الصبغي نفسه مؤدياً لفقد مادة وراثية منه. يُرمز للخبن وفقاً للنظام العالمي لتسمية الصبغيات لدى الإنسان (ISCN) ب: del. يمكن أن يحدث الخبن في أطراف الصبغي، ويُسمى الخَبْن الانتهائي (Terminal deletion). نذكر من الأمثلة عن الخبن الانتهائي:

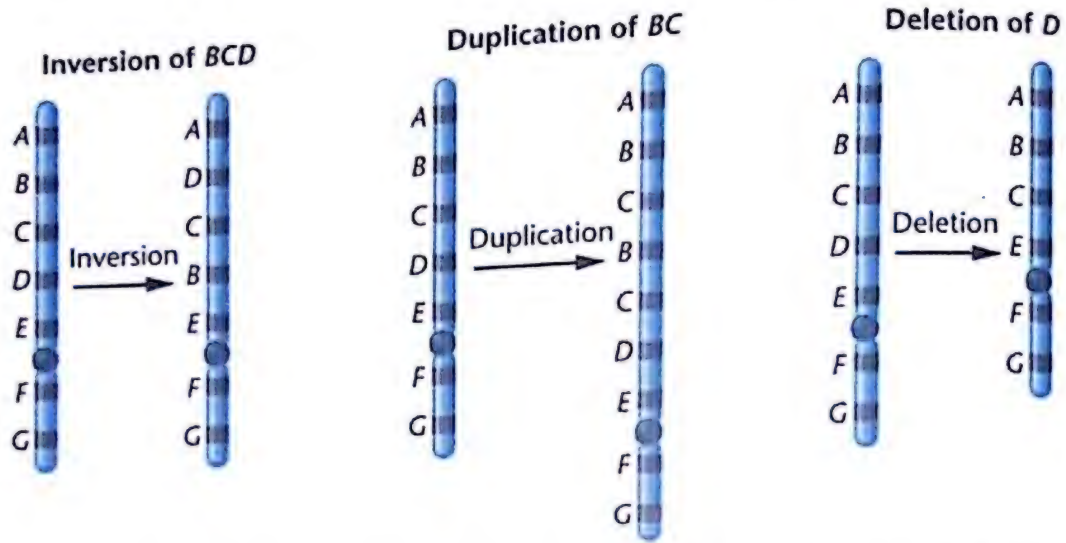
- متلازمة مواء القطعة (Cri-du-chat): والتي تنجم عن خبن انتهائي في الذراع القصير من الصبغي الخامس. تُكتب صيغة متلازمة مواء القطعة كما يلي: 46,XY,del(5)(p15). وتفسر على النحو التالي: صيغة صبغية لذكر يحمل عدداً طبيعياً من الصبغيات، لديه خبن في العصابة الخامسة من المنطقة الأولى للذراع القصير في الصبغي الخامس. يبكي الأطفال المصابون بمتلازمة مواء القطعة بصوت مشابه لمواء القطعة، كما تظهر عليهم تشوهات فيزيائية عديدة نذكر منها: صغر الرأس، قُرْط تَبَاعُدِ العَيْنَيْن (Ocular hypertelorism)، صِغَرُ الفَكِّ (Micrognathia)، تخلف عقلي شديد.

- متلازمة ولف هيرشورن (Wolf-Hirschhorn Syndrome): تنجم عن خبن انتهائي في الذراع القصير من الصبغي الرابع. تُكتب صيغة المتلازمة لذكر مصاب كما يلي: 46,XY,del(4)(p16.3). يعاني المصابون بهذه المتلازمة تشوهات فيزيائية عديدة وتخلفاً عقلياً شديداً.

كما قد يحدث الخبن ضمن الصبغي ويطلق عليه في هذه الحالة الخَبْن الخِلَائِي (Interstitial deletion) (الشكل 10-10). ولتوضيح طريقة كتابة صيغة الخبن بحسب الـ ISCN نأخذ المثال التالي: 46,XX,del(X)(p1p2) تشير الصيغة إلى عدم وجود اختلال في عدد الصبغيات لدى هذه الأنثى، وبدل الرمز del إلى وجود خبن في الذراع القصير من الصبغي X بين المنطقتين 1 و2.

تتعلق التأثيرات الحيوية للخبن بنوعيه الطرفي والخلالي بحجم المادة الوراثية المفقودة وبما تحتويه الشدفة (Fragment) المحذوفة من جينات. وبشكل عام كلما كانت كبيرة تلك الشدفة المحذوفة كلما كانت التأثيرات الحيوية أشد وخامة وخطورة.

يجب التنويه هنا إلى أن الخبن إذا ما أدى لضياع القسم المركزي مع الشدفة المحذوفة فإن الصبغي المتأذي محكوم عليه بالضياع خلال دورة الانقسام الخلوي بسبب عجزه عن الارتباط بالألياف المغزلية خلال الطور التالي ومن ثم إخفاقه في الهجرة خلال طور الصعود (Anaphase) وعدم وجوده في نواة أي من الخليتين البنيتين (الشكل 10-11).

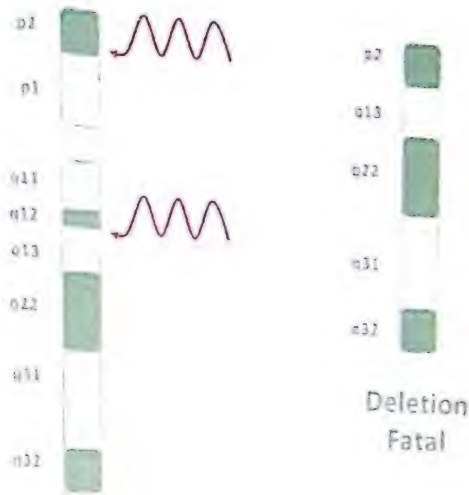
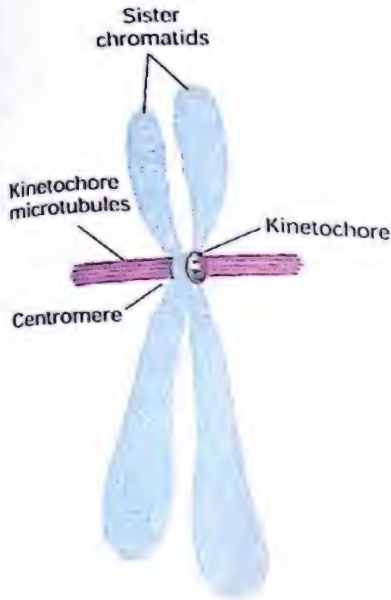


(الشكل 10-10): شكل توضيحي تشوهات بنيوية عدة في الصبغيات مقارنة مع صبغيات طبيعية بجانبها. نلاحظ من اليمين خبناً خالياً في المنطقة D. يليه تضاعف في المنطقتين B و C. ثم انقلاب في القطعة من الصبغي الحاوية على المناطق B و C و D.

2.2.10. التضاعف (Duplication):

يُعرف التضاعف أنه وجود لقطعة أو لموضع واحد من الصبغي لأكثر من مرة على الصبغي نفسه (الشكل 10-10). يمكن أن ينشأ التضاعف بسبب حادثة تعابر غير متساو (Unequal crossing over) خلال الانقسام الانتصافي (الشكل 10-12). ويُرمز له وفقاً للنظام العالمي لتسمية الصبغيات لدى الإنسان (ISCN) ب: **dup**. نأخذ الصيغة التالية كمثال: $46,XY,dup(14)(q1q3)$. تدل الصيغة على أن المريض هو ذكر لا يحمل أي اختلال في عدد صبغياته (46)، وإنما تضاعف (dup) في الذراع الطويل من الصبغي الرابع عشر بين المنطقتين 1 و 2. يكون تأثير التضاعف بحسب القطعة المتضاعفة وما تحمله من جينات. يجب التنويه هنا إلى وجود شدة من الدنا متكررة لأكثر من مرة في المجين البشري. من هذه الشدة نذكر عدد النسخ المتفاوتة (Copy number variants) ويطلق عليها اختصاراً (CNVs). يبلغ طول الـ CNV نحو 1000 شفع من الأسس (1000 base pairs) أو

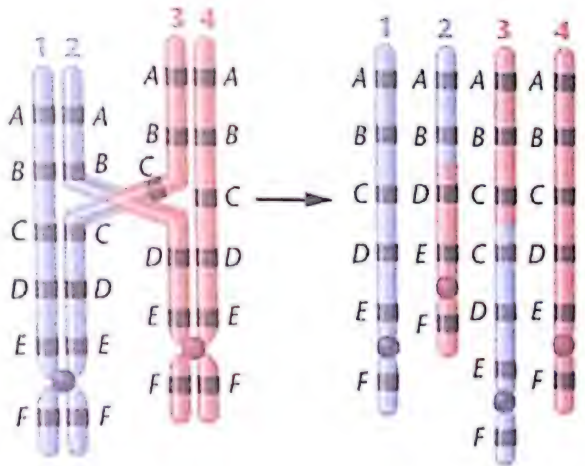
اختصاراً 1kb (أشارت دراسات حديثة إلى أن طول الـ CNVs يبلغ 500 شفع من الأسس). وتتشر في 10000 موقع على كامل المجين. ركزت دراسات كثيرة على إيجاد علاقة ما بين الـ CNVs والاستعداد الوراثي للإصابة ببعض الأمراض سيما الأمراض المعقدة مثل السرطان والسكري والأمراض العصبية، أو حتى إيجاد علاقة ما بين هذه التكرارات الجينية والاستجابة الدوائية.



(الشكل 10-11): شكل توضيحي لحدوث خبن يشمل منطقة القسم المركزي من الصبغي. على اليمين تشير الأسهم لمكان الكسر، ونلاحظ أن الصبغي مآله إلى الضياع خلال عملية انقسام الخلية. على اليسار نلاحظ أهمية القسم المركزي إذ تتوضع عليه بروتينات الخيز الحركي، وتقوم بربط الصبغيات مع الأنابيبات (Microtubules).

(الشكل 10-12): شكل توضيحي لحدوث تضاعف

وخبن خلال حادثة التعابر أثناء الانقسام الانتصافي. نلاحظ أن التعابر ما بين شقي الصبغي اللامتأخين (Nonsister chromatids) 2 و 3 لم يتم بشكل صحيح مما أدى إلى تولد صبغي (2) يحوي خبناً وإلى تولد صبغي آخر (3) يحوي تضاعفاً.



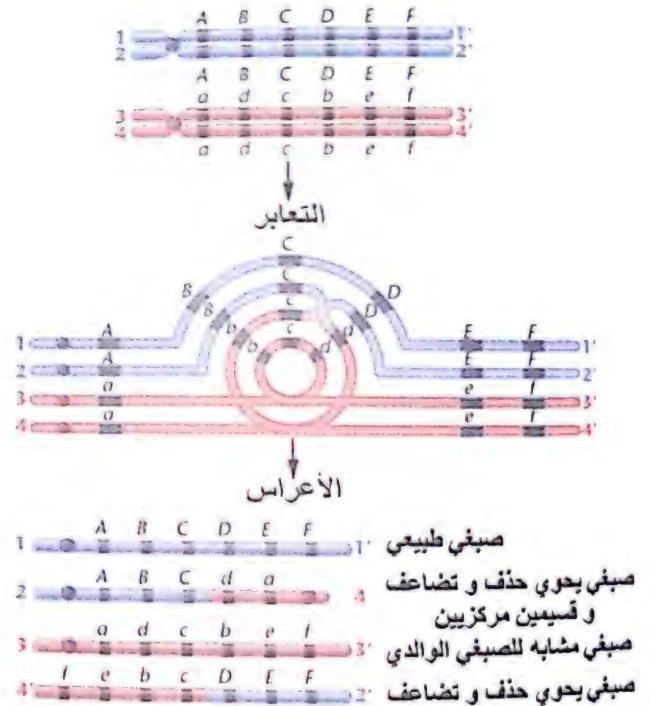
3.2.10. الانقلاب (Inversion):

ما يحدث في هذا النوع من التبدلات الصبغية هو كسر في طاقى الدنا ثم انقلاب الشدفة المكسورة 180° والتحامها ضمن الصبغي نفسه، مما يؤدي لتغير في ترتيب الجينات على الصبغي. إذا ما كان القسم المركزي خارج الشدفة المنقلبة يسمى الانقلاب انقلاباً مجاوراً للمركز (Paracentric inversion)، وإذا كان القسم المركزي ضمن الشدفة المنقلبة يسمى الانقلاب انقلاباً محيطاً للمركز (Pericentric inversion).

(inversion). ويُرمز للانقلاب وفق النظام العالمي لتسمية الصبغيات لدى الإنسان (ISCN) بـ: inv. نقرأ الصيغة على النحو التالي: 46,XX,inv(9)(p13q22)، أنثى لا يوجد لديها اختلال في الصيغة الصبغية، وإنما انقلاب في الصبغي التاسع. وتشير الأرقام والأحرف إلى أن نقطتي الكسر حدثتا في العصابة 3 في المنطقة 1 من الذراع القصير والعصابة 2 في المنطقة 2 من الذراع الطويل. قد يتسبب الانقلاب بضرر وقد لا يتسبب. والسبب في ذلك مكان الكسر إن كان يمس ببنية جين ما أو لا. فأمّا إذا كانت نقطة الكسر ضمن بنية الجين فسيؤدي إلى تعطيلها والتأثير على منتجها حتماً مؤدياً إلى تأثيرات حيوية عديدة، وأمّا إن كانت نقطة الكسر خارج بنية الجين فلا أذية تُذكر وتبقى جميع المعلومات الوراثية مصانة.

ولكن يبقى للانقلاب تأثير خلال عملية تشكل الأعراس ومن ثم على ذرية الكائن الحامل للانقلاب. فخلال الانقسام الانتصافي، وبالتحديد أثناء عملية التعابر، يحدث أن يصطف كل شقي صبغي متآخين مقابل شقي الصبغي الآخرين المشابهين لهما. إذا لم يحدث تعابر بين شقي الصبغي اللامتآخين فلن يحدث أي ضرر. أما إذا حدث التعابر فإن النتيجة ستكون أن نصف الأعراس سليمة والنصف الآخر سيجمل صبغيات ذات شذوذات بنيوية عديدة من خبن وتضاعف الشكل (10-13).

(الشكل 10-13): شكل توضيحي لأثر الانقلاب على تشكيل الأعراس خلال الانقسام الانتصافي. تتشكل عروة أثناء التعابر وبعد حدوث التعابر يظهر لدينا عِزس يحمل صبغياً طبيعياً (1) لم يمسه التعابر، وعِزس ثانٍ يحمل صبغي مشابه للصبغي الوالدي (3) طبيعي لم يمسه التعابر أيضاً، وعِزس يحمل الصبغي (2) فيه حذف وتضاعف لشدة عديدة بالإضافة إلى خسارته القسم المركزي، وعِزس يحمل الصبغي (4) فيه حذف وتضاعف لشدة عديدة بالإضافة إلى اكتسابه لقسيم مركزي ثانٍ.

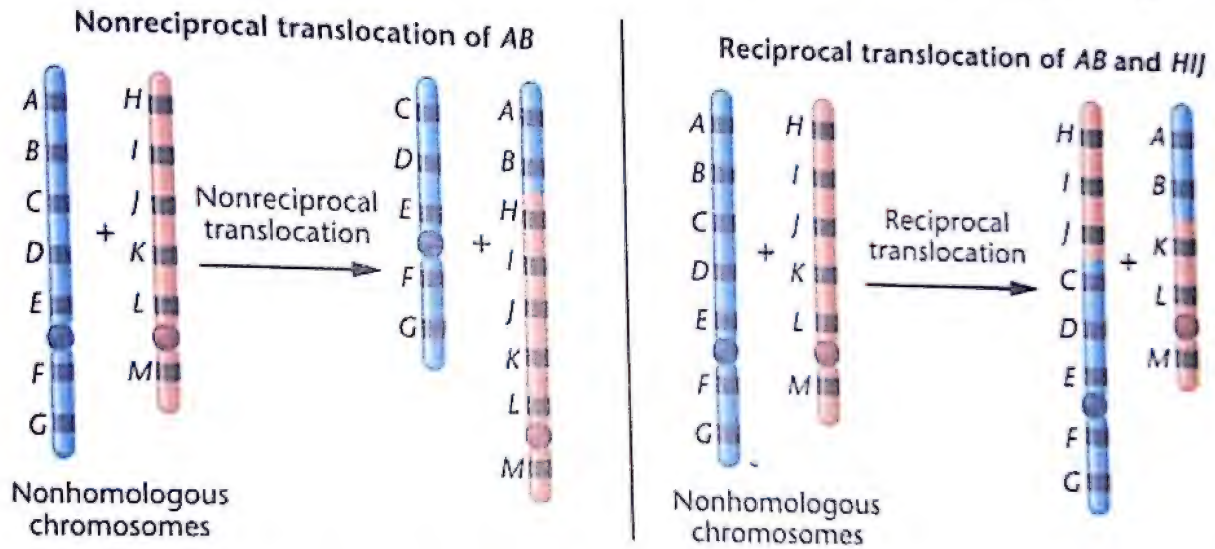


4.2.10. الإزفاء (Translocation):

هوانتقال لشدة / شدة ما بين صبغيين غير متماثلين (Nonhomologous chromosomes). قد يكون هذا الانتقال بشكل متبادل أي تنتقل قطعة من الصبغي 1 إلى الصبغي 2، وتنتقل قطعة أخرى من

المصبغي 2 إلى المصبغي 1، يسمى هذا النوع بالإزفاء المتبادل (Reciprocal translocation). وقد يكون الانتقال من صبغي إلى آخر ويسمى بالإزفاء غير المتبادل (Nonreciprocal translocation).

(الشكل 10-14).
يُرمز للإزفاء وفقاً للنظام العالمي لتسمية الصبغيات لدى الإنسان (ISCN) بالحرف **t**. وتقرأ الصيغة الصبغية التالية كما يلي: $46,XY,t(7;19)(q22;q13)$ ، ذكر لا يوجد لديه اختلال في الصيغة الصبغية (46)، وإنما إزفاء متبادل ما بين الصبغيين السابع والتاسع عشر. وتتوضع نقطتا الكسر عند العصاة 2 في المنطقة 2 من الذراع الطويل للصبغي 7 وعند العصاة 3 في المنطقة 1 من الذراع الطويل للصبغي 19. أي إن الشدفة المكسورة من الذراع الطويل للصبغي 7 قد انتقلت إلى الصبغي التاسع عشر والتحتت في نقطة الكسر من الذراع الطويل للصبغي 19، وانتقلت الشدفة المكسورة من الذراع الطويل من الصبغي 19 إلى الصبغي 7 والتحتت في نقطة الكسر من الذراع الطويل للصبغي 7.



(الشكل 10-14): يوضح الإزفاء المتبادل بين صبغيين غير متماثلين على اليمين والإزفاء غير المتبادل بين صبغيين غير متماثلين على اليسار.

يمكن تحري الإزفاء المتبادل مرة واحدة من كل 800 مولود حي، وتكون هذه الإزفاءات منتشرة لدى عائلات معينة.

ليس للإزفاء في كثير من الأحيان تأثيرات حيوية مباشرة على الشخص الحامل لها بسبب أن المادة الوراثية لا تُفقد، وإنما فقط هناك تغيير في المكان. قد يكون الإزفاء ضاراً في حالتين اثنتين:

- وجود نقطة الكسر، في الشدفة المنتقلة، في بنية جين ما وهنا يكون التأثير الحيوي بحسب الجين المتأذية. مثلاً نجد الإزفاء التالي: $t(9;22)(q34;q11)$ في 90-95% من حالات ابيضاض الدم النقوي المزمن (Chronic myeloid leukemia: CML)، وهو سرطان يتسبب في فرط

إنتاج نوع من كريات الدم البيضاء تدعى بالكُرَيَّات البيضاء المُحَبَّبة (Granular leukocytes).

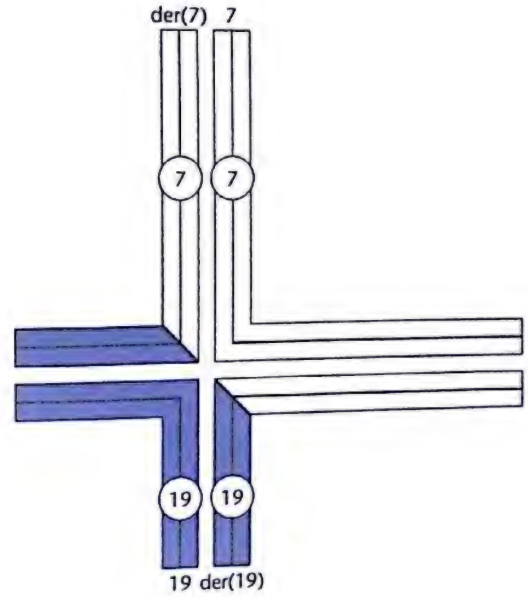
- قد ينجم عن الإزفاء المتبادل خلل أثناء تشكيل الأعراس في الانقسام الانتصافي (الشكل 10-15). في هذه المثال الذي يشير لحالة إزفاء ما بين الصبغيين 7 و 19 [t(7:19)(q22;q13)] وخلال عملية تشكل المشابك في الانقسام الانتصافي الأول فإنه ستتشكل بنية رباعية التكافؤ تضم كلاً من الصبغيين السليمين 7 و 19 بالإضافة للصبغيين الحاملين للإزفاء. وبعد حدوث التعابر والهجرة في الانقسام الانتصافي الأول قد تنشأ تراكيب جينية مختلفة ضمن الصبغيات في كل عرس. وبعد انتهاء الانقسام الانتصافي الثاني فإن الأعراس ستحمل إما صيغة صبغية كاملة وإما صيغة صبغية غير طبيعية حاوية على زيادة أو نقصان لشدة من هذا الصبغي أو ذاك. وبعد حدوث الإخصاب (Fertilization) مع عرس آخر فإننا نصبح أمام احتمالات أربعة (الشكل 10-16).

- 1- زيجوت تحمل صيغة صبغية كاملة خالية من الإزفاء [7,7 / 19,19].
- 2- زيجوت تحمل الصيغة الصبغية [7,7 / 19,der(19)] الحاوية على: صبغيين 7 طبيعيين وكاملين، صبغي واحد 19 طبيعي وكامل، صبغي 19 يحمل شدة من الصبغي 7. أي نحن أمام تثلث صبغي 7 جزئي (Partial trisomy) وأحاد صبغي 19 جزئي (Partial monosomy).
- 3- زيجوت تحمل الصيغة الصبغية [7,der(7) / 19,19] الحاوية على: صبغيين 19 طبيعيين وكاملين، صبغي واحد 7 طبيعي وكامل، صبغي 7 يحمل شدة من الصبغي 19. أي نحن أمام تثلث صبغي 19 جزئي وأحاد صبغي 7 جزئي.
- 4- زيجوت تحمل الصيغة الصبغية [7,der(7) / 19,der(19)] الحاوية على: صبغيين 7 و 19 طبيعيين وكاملين، صبغيين 7 و 19 يحملان الإزفاء المتبادل دون وجود نقص أو زيادة في المادة الوراثية. هذه الحالة مماثلة لحالة الوالد الثاني.

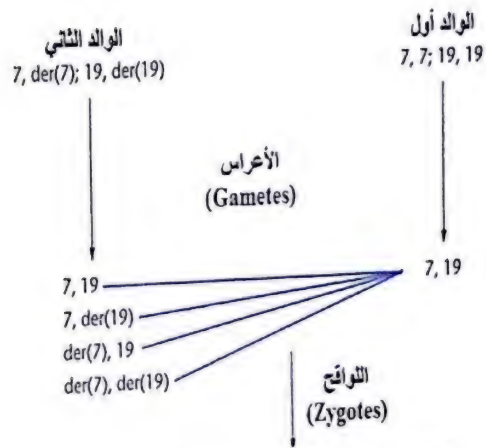
يجب التنويه في النهاية إلى أنه في حالات يمكن أن يكون الإزفاء غير عكوس وفي حالات أندر يمكن أن يحدث الإزفاء ما بين ثلاث صبغيات أو أكثر، حتى الأنواع الأخرى من التشوهات البنيوية يمكن أن تطل أكثر من صبغي مختلف. وإذا وجدت مثل هذه التشوهات البنيوية المتعددة في زيجوت ما فإنها على الأغلب مميتة.

يبدو جلياً أن كليهما العدد الصحيح للصبغيات ويكون توافر كامل كمية المعلومات الوراثية ضرورياً للتطور الطبيعي للجنين.

(الشكل 10-15): يمثل تشكّل البنية الرباعية أثناء الانقسام الانتصافي الأول بين الصبغيين 7 و 19. مع العلم أنه قد حصل إزفاء ما بين هذين الصبغيين (7:19). يشير الرمز der إلى مشتق (Derived).



(الشكل 10-16): الاحتمالات الافتراضية لحالة زواج بين والد طبيعي (الأول) وآخر (الثاني) يحمل الإزفاء المتبادل (7:19) وهو طبيعي أيضاً. يشير الشكل إلى وجود أربعة احتمالات. نتيجة لهذه الاحتمالات فإن الزيجوتين اللتين تحملان الرقم 1 والرقم 4 ستتابعان التطور خلال الحمل بشكل طبيعي حتى الولادة. أما الزيجوتان اللتان تحملان الرقم 2 والرقم 3 فإنهما لن تتطورا بشكل طبيعي خلال الحمل، وسيحدث إجهاض على الأغلب قبل الوصول للولادة. لذا يمكن القول إن الإزفاء المتبادل يسبب نظرياً نقصاً في معدل الخصوبة بنسبة 50%.



- 1- لاقحة تحمل الصبغيات [7, 7 / 19, 19] طبيعية
- 2- لاقحة تحمل الصبغيات [7, 7 / 19, der(19)] غير طبيعية
- 3- لاقحة تحمل الصبغيات [7, der(7) / 19, 19] غير طبيعية
- 4- لاقحة تحمل الصبغيات [7, der(7) / 19, der(19)] ممثلة للوالد الثاني طبيعي

الفصل الحادي عشر

الاستئصاح الوراثي

Genetic Counseling

المحتويات Contents

- | | |
|--|---|
| 1.11. التعريف | 2.9.11 . الوراثة الصبغية الجسدية السائدة |
| 2.11. القصة المرضية والعائلية | 3.9.11 . الوراثة الصبغية الجسدية المتنحية |
| 3.11. بناء شجرة النسب | 4.9.11 . القربى |
| 4.11. استطبابات الاستئصاح الوراثي | 5.9.11 . الوراثة المرتبطة بالصبغي |
| 5.11. الفحص الفيزيائي | 1. 5.9.11 . الوراثة المتنحية المرتبطة بالصبغي X |
| 6.11. التشخيص والاستقصاءات الوراثية | 2. 5.9.11 . الوراثة السائدة المرتبطة بالصبغي X |
| 7.11. التشخيص الوراثي قبل التعشيش | 6.9.11 . الوراثة المتعددة العوامل |
| 8.11. التشخيص قبل الولادة | 7.9.11 . طرز الوراثة غير التقليدية |
| 1.8.11 . بزل السلى | 10.11 . معالجة الأمراض الوراثية |
| 2.8.11 . اعتيان الزغابات المشيمائية | 1. 10.11 . الاضطرابات الصبغية |
| 3.8.11 . بزل الحبل السري، وأخذ خزعة من جلد أو كبد الجنين | 2.10.11 . اضطرابات الجين الفردي |
| 4.8.11 . الخلايا الجنينية في الدورة الدموية للأم | 3.10.11 . الاضطرابات متعددة العوامل |
| 9.11. اختطار الرجعة وطرز الوراثة | 4.10.11 . اضطرابات المنقدرات |
| 1.9.11 . الاضطرابات الوراثية حيال العائلية | 5.10.11 . الاضطرابات الجينية للخلايا الجسدية |
| | 11.11 . الاستئصاح والمتابعة |

يعد الارتقاء بالصحة وتعزيزها واتخاذ الوسائل الوقائية من الأهداف الرئيسية للرعاية الصحية الأولية الموجهة للفرد والمجتمع لتعديل السلوك الصحي، وتصحيح المفاهيم الخاطئة الناتجة عن تدخل الوراثة والسلوك والبيئة ونمط الحياة، مما كان له الأثر الواضح في انتشار كثير من الأمراض ومنها الأمراض الوراثية في المجتمع.

يُدخل الاستئصال الوراثي والفحوصات الطبية قبل الزواج في مجال الطب الوقائي الذي يهدف إلى الحد من انتشار الأمراض الوراثية.

1.11. التعريف:

يعرف الاستئصال الوراثي بالعملية التثقيفية التي تهدف إلى مساعدة الأفراد المصابين أو ذوي اختطار الإصابة بأمراض وراثية، وذلك لفهم طبيعة الاضطراب الوراثي، انتقاله، والخيارات المتوفرة لهم في التدبير والتخطيط العائلي، إضافة إلى تقديم الدعم النفسي وخطة التعامل مع الحالة الوراثية.

رغم أن وظيفة توفير المعلومات حول الأمراض الوراثية غالباً ما تتم من قبل فريق من اختصاصيي الوراثة الطبية عاليي التدريب والناصحين الوراثين Genetic Counselors فإنه يمكن أيضاً توفير المعلومات من قبل طبيب العائلة، طبيب الأطفال، طبيب النسائية والتوليد، أو الممرضة المختصة.

يجب أن يتم الاستئصال الوراثي اعتماداً على فهم المبادئ الوراثية، والقدرة على التعرف على الأمراض الوراثية والمتلازمات النادرة وتشخيصها، ومعرفة السير الطبيعي للاضطراب الوراثي واختطار رجعته.

إن معرفة طرائق التشخيص قبل الولادة وبرامج التقصي المتوفرة والوصول إلى المعلومات حول التقدم في الاضطرابات الوراثية والطرائق الطبية هي ضرورة أيضاً.

يتضمن الاستئصال الوراثي: القصة المرضية والعائلية وبناء شجرة النسب والفحص الفيزيائي والتشخيص وإبداء المشورة والمتابعة.

2.11. القصة المرضية والعائلية:

يدعى الفرد المصاب الذي يطلب الاستئصال الوراثي لأجله بالمُستئلف Proband، الذي غالباً ما يكون طفلاً، وربما يكون بالغاً، سواء أكان ذكراً أم أنثى، وربما يكون قريباً له.

لذلك يحتاج الأمر إلى أخذ قصة طبية معيارية للمستلقت ولأي فرد آخر مصاب من العائلة، إضافةً إلى معرفة التاريخ الطبيعي للاضطراب الوراثي النوعي في العائلة. كذلك توثيق القصة قبل الولادة، الحمل، وظروف الولادة.

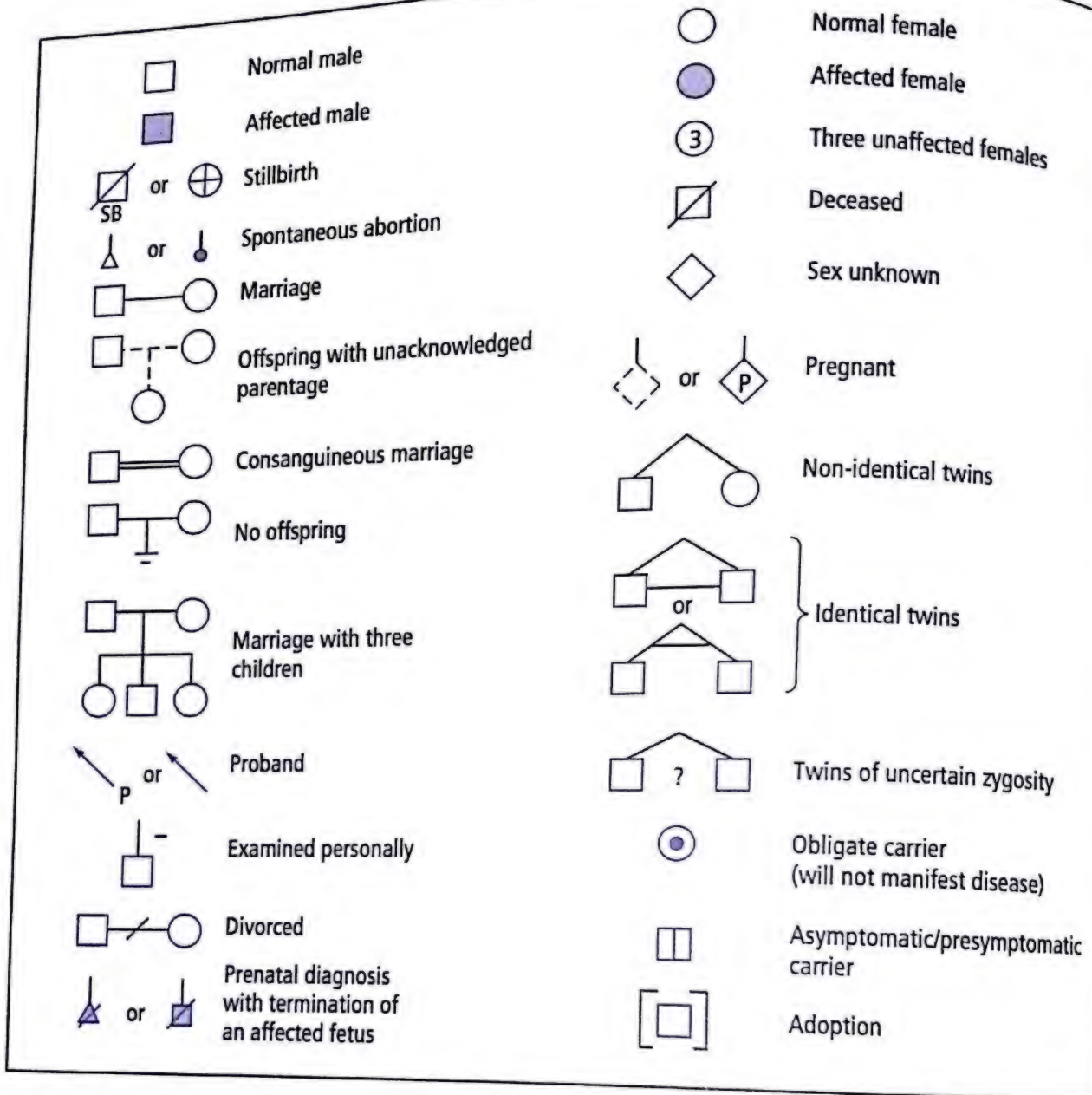
3.11. بناء شجرة النسب The Pedigree:

إن شجرة النسب هي مِبيان diagram للقصة العائلية يُظهر عبر الرسم صلة القرى بين أفراد العائلة، ويبيّن أيّاً من أفراد العائلة هو المصاب بحالات طبية معينة.

يجب الحصول على معلومات شجرة النسب من أجل ثلاثة أجيال من العائلة الجاري تقييمها من أجل الاضطراب الوراثي. يتشارك أقرباء الدرجة الأولى مع المستلفت (الذي جلب الانتباه للعائلة تجاه المرض الوراثي) بنصف مادتهم الوراثية وهم الأخوة، والأخوات، والآباء، والأبناء.

وهؤلاء الذين يتشاركون بربع مادتهم الوراثية هم أقرباء من الدرجة الثانية (الأجداد، والأحفاد، والعمات، والخالات، والأعمام والأخوال، وبنات الأخ وبنات الأخت، وأبناء الأخ وأبناء الأخت). وأخيراً يتشارك أقرباء الدرجة الثالثة والرابعة مع المستلفت بثمن أو أقل من مادتهم الوراثية.

تُستخدم في رسم شجرة النسب مجموعة من الرموز القياسية (الشكل 11-1). لقد اتفق على وضع الخط الذكري على اليسار، وكل أفراد الجيل الواحد يوضعون على نفس المستوى الأفقي، وتُستعمل الأرقام العربية لتشير إلى كل فرد في داخل كل جيل (مع بدء الترقيم من اليسار)، كما يُرمز لكل جيل بالأرقام الرومانية بدءاً من الجيل الأول.



(الشكل 11-1): رموز شائعة الاستخدام في رسم شجرة النسب.

يستطيع الناصح الوراثي من خلال النظرة المتفحصية لشجرة النسب أن يحدد طرق توارث المرض الوراثي سواء كانت طرقاً تقليدية (مندلية أو مرتبطة بالجنس) أو غير تقليدية (مثل التوارث المتقري) أو متعددة العوامل.

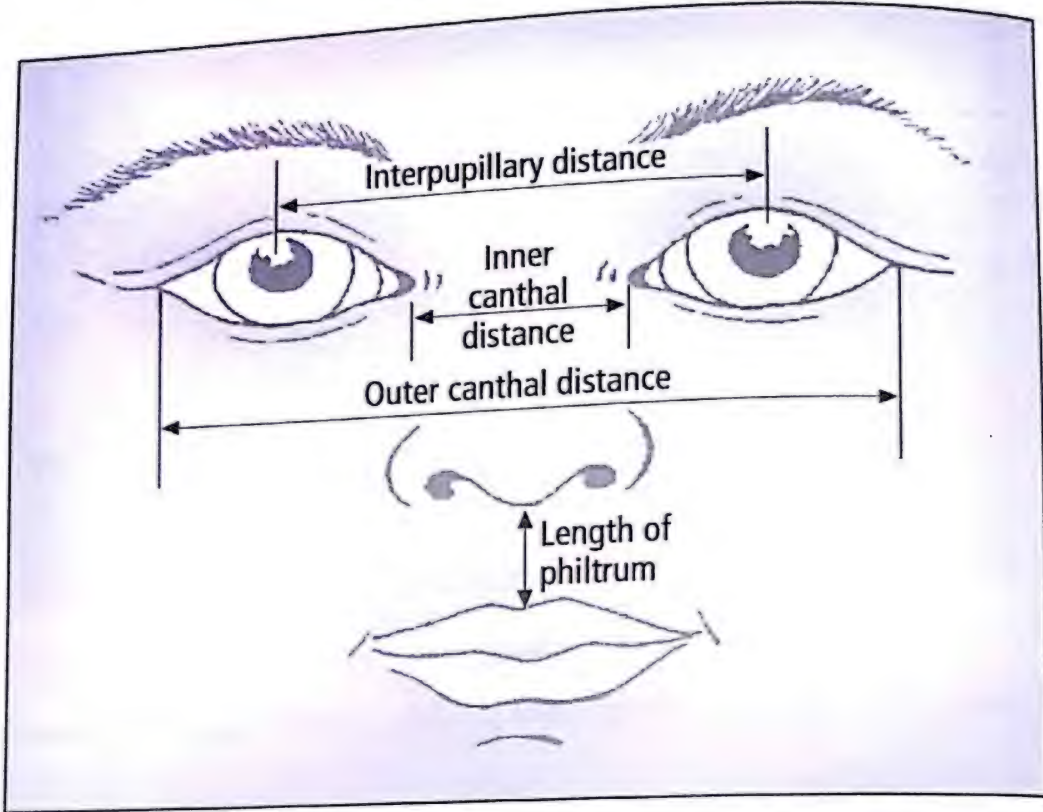
4.11. استطبابات الاستئصاح الوراثي Genetic Counseling indication:

- عمر والدي متقدم: عمر الأم < 35 سنة، عمر الأب < 50 سنة.
- طفل ذو شذوذات خلقية أو تشوهات.
- زواج القربى Consanguinity
- قصة عائلية لاضطرابات أو أمراض وراثية وتشمل:
 - كهولة.
 - وراثية متعددة العوامل.
 - شذوذاً صبغياً.
 - اضطرابات أحادية الجين.
- تقصّي متغاييري الألائل اعتماداً على الإثنية مثل فقر الدم المنجلي والتالاسيميا عند المتوسطيين والعرب.
- تقصي شذوذ في الحمل، ويشمل:
 - فحصاً بالأموح فوق الصوتية.
 - ألفا فيتوبروتين مصل الأم.
 - الاختبار الثلاثي لمصل الأم.
- إملاص Stillbirth (ولادة جنين ميت) ذو شذوذات خلقية أو مجهول السبب.
- التعرض أو اختطار التعرض لعامل ماسخ Teratogen.
- قصة عائلية لولادة طفل مصاب بشذوذات خلقية أو تخلف عقلي.
- فقدان الحمل المتكرر أو الإجهاضات المتكررة.
- قصة عائلية للإصابة بالسرطان خاصة في أعمار مبكرة.

5.11. الفحص الفيزيائي Physical Examination:

يجرى فحص فيزيائي كامل للمستلقت مع وصف دقيق للملامح الشكلية وشذوذاتها Dysmorphic Features مثل تباعد المسافة بين الحدقتين، الموقين، توضع منخفض للأذنين، قصر الرأس، انحراف الأصابع... إلخ (الشكل 11-2). قد يكون الانطباع الأولي خادعاً، لذلك من المهم أن تُجرى القياسات الدقيقة من أجل إثبات ملمح معين مثل اتساع المسافة بين العينين أو قصر القامة غير المتناسق، مع الأخذ بعين الاعتبار أن المجال السوي لكل ملمح يختلف باختلاف العمر والجنس، وكل هذه التغيرات

موجودة في جداول وثيقة الصلة بهذا الموضوع. كما يمكن أن تقدم دراسة نموذج بصمة الأصابع Dematoglyphics مفاتيح مهمة لتشخيص الاضطراب الوراثي.



(الشكل 11-2): بعض القياسات المستخدمة في دراسة الملامح الشكلية.

6.11. التشخيص والاستقصاءات الوراثية Diagnosis and Genetic Investigation:

لا بد من محاولة الوصول إلى التشخيص الدقيق للأمراض الوراثية، لأنه دون ذلك يكون الاستقصاح الوراثي مضللاً (الجدول 11-1). كما يعتمد تقدير اختطار الرجعة من أجل مختلف أفراد العائلة على التشخيص الدقيق. وعند عدم التمكن من وضع تشخيص نوعي (كما في كثير من حالات الشذوذات الخلقية المتعددة)، فيجب مناقشة التشخيصات التفريقية المتنوعة مع العائلة والمعلومات التجريبية Empirical المتوفرة. إضافة إلى طلب الاستقصاءات الوراثية المتاحة مثل دراسة النمط الصبغي Karyotype، تحاليل سلسلة الدنا، إضافة إلى التحاليل البيولوجية الجزيئية.

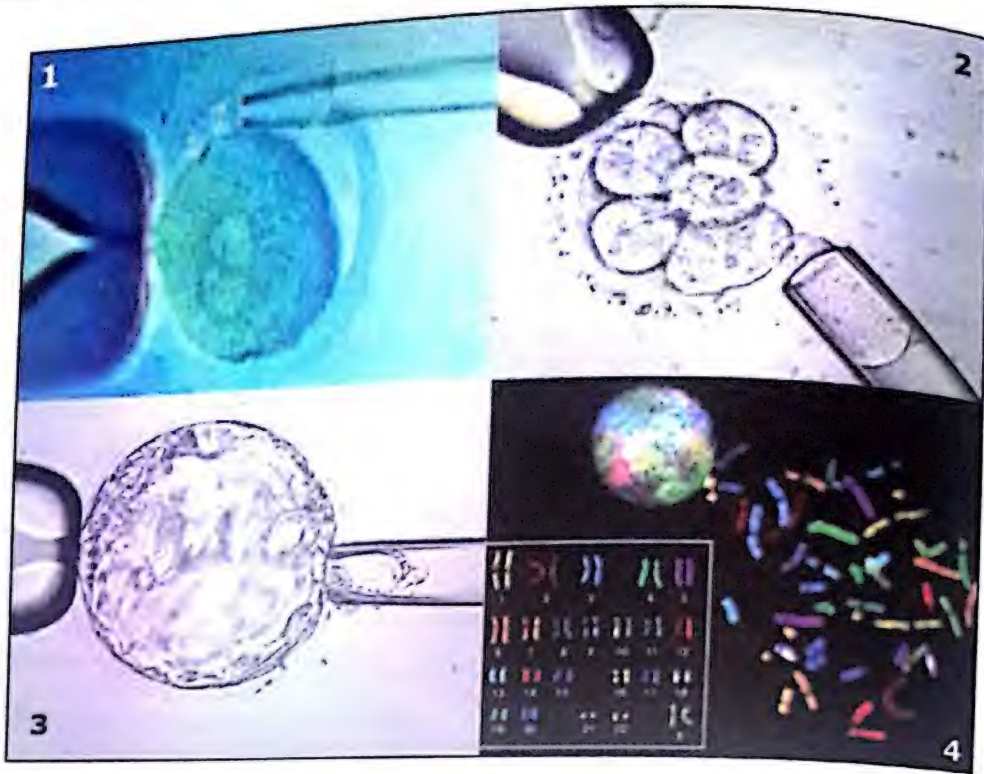
وفي حال وفاة الأشخاص المصابين أو عدم التمكن من مراجعتهم للتقييم السريري، يجب محاولة الحصول على سجلاتهم من مراكز الاستشفاء، التي عن طريقها ربما يمكن التوصل إلى التشخيص الحقيقي.

(جدول 11-1): يوضح الأخطاء والعثرات التي تعترض عمل الاستنصاح الوراثي.

- عدم وجود تشخيص دقيق للمستألف Proband.
- تشخيص خاطئ أو غير كامل.
- التباين الجيني الوراثي Genetic heterogeneity.
- عدم النفاذ Non-Penetrance.
- تعبير متغير Variable expression.
- مرض غير موصوف سابقاً.
- التزيق القندي Gonadal mosaicism.
- الطفرات غير المستقرة Unstable mutations.

7.11. التشخيص الوراثي قبل التعشيش (PGD) Pre-implantation Genetic Diagnosis

تعتبر هذه التقنية الحديثة أحد الخيارات العلاجية للأزواج الحَمَلة لأمراض وراثية محددة أو اضطرابات صبغية معروفة، وتتم باتباع تقانات الإخصاب المساعد Assisted Reproduction Techniques خارج الجسم. إذ يتم إخصاب بويضات الزوجة بنطاف الزوج والوصول إلى مُضَغ Embryos تطويرية ثم اعتيان أحد القسيمات الأرومية في مرحلة التويطة الباكرة Early morula أو اعتيان بضع خلايا من الأرومة المغذية Trophoblast ثم إرسالها للدراسة الوراثية بغية تقصي وجود المرض الوراثي المعروف بالعائلة ليتم استبعاد الأجنة المصابة ونقل الأجنة السليمة إلى الرحم. وفي بعض الأمراض الوراثية القادمة من الزوجة يمكن اعتيان الجسم القطبي الأول First polar body وإجراء الدراسة الوراثية عليه ومن ثم استبعاد البويضات المصابة (الشكل 11-3).



(الشكل 11-3): مراحل التشخيص الوراثي ما قبل التعشيش. (1) اعتيان الجسم القطبي الأول، (2) اعتيان القسم الأرومي، (3) اعتيان الأرومة المغذية، (4) صورة للنمط الصبغي.

8.11. التشخيص قبل الولادة Prenatal Diagnosis:

يشتمل التشخيص قبل الولادي على جميع التحاليل في المضغة Embryo والجنين Fetus. يستطب إجراء التشخيص قبل الولادي من أجل الحالات الوراثية في نحو 8% من جميع حالات الحمل. ويمكن للتشخيص قبل الولادي أن يقدم نوعاً من الطمأنينة للزوجين اللذين لديهما نسبة خطورة مرتفعة لأمراض وراثية خطيرة، والتي لولا التشخيص قبل الولادي لأحجم الكثير من الأزواج عن التورط في إنجاب النسل. من الناحية العملية، يقدم التشخيص قبل الولادي في 93% من الحالات إعادة الطمأنينة للأزواج المعنيين، ومهما كان سبب طلب الاختبار، فمن الأهمية شرح الخطوط العريضة للزوجين في حدود الاختبار المطلوب وتذكيرهم أنه لا يوجد اختبار واحد ولا حتى مجموعة من الاختبارات التي يمكنها استبعاد كل الشذوذات. وفي حال وجود نتيجة اختبار إيجابية تؤدي إلى قرار إنهاء الحمل، فمن المهم جداً إرسال كامل محصول الإجهاض إلى المختبر من أجل تأكيد التشخيص.

يتوفر كثير من طرائق التشخيص قبل الولادة، اعتماداً على الاضطراب الوراثي النوعي. يسمح التصوير بالصدى (فائق الصوت Ultrasound) بتشخيص الشذوذات التشريحية الجنينية مثل عيوب القلب الخلقية.

كما استخدم بزل السلى Amniocentesis والاعتيان الزغابي المشيمي choriionic villi sampling للحصول على نسيج جنيني لتقصي الشذوذات الصبغية، الاضطرابات الكيميائية الحيوية، ودراسة الدنا (الشكل 11-4) و(الجدول 11-2).

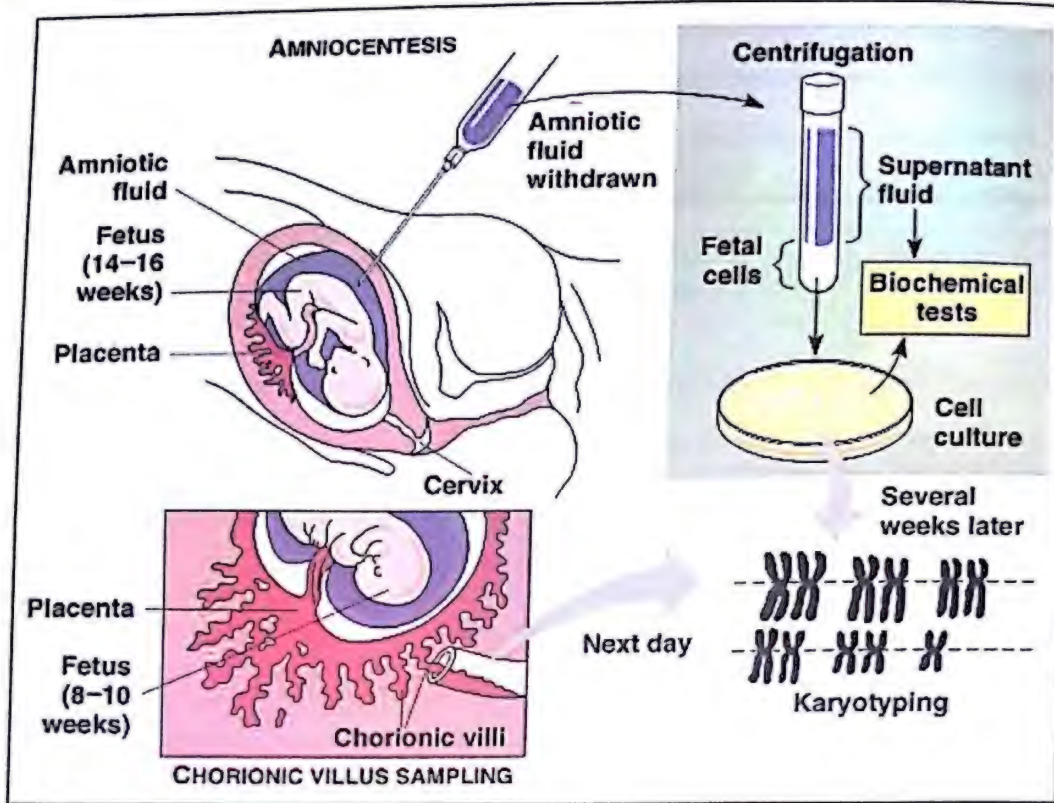
يستخدم اعتيان مصل أو دم الأم من أجل بعض أنماط التقصي الوراثي. كما يمكن الاستئصال على الخلايا الجنينية من الحبل السري أو من الدم الأمومي من أجل الاختبارات الوراثية.

1.8.11 . بزل السلى (Amniocentesis):

يعني بزل السلى سحب كمية من السائل السلوي. غالباً ما يجرى البزل في المدة بين 12-16 أسبوعاً من الحمل، حيث يوجد نحو 180 مل من السائل السلوي، وتكون نسبة الخلايا الميتة عند الذروة، وبالرغم من ذلك، فقد أصبح إجراء البزل بين الأسبوع 12-15 من الحمل يتم بتواتر أعلى، تحت شروط تعقيمية جيدة، وبعد تعيين توضع المشيمة بالتصوير بفائق الصوت (الشكل 11-4)، (الجدول 11-2)، (الجدول 11-3).

(الجدول 11-2): تقنيات التشخيص قبل الولادي.

تقنيات غير باضعة	تقنيات باضعة
التصوير بفائق الصوت أنواع أخرى من التصوير الشعاعي فحص خلايا الجنين في دوران الأم	بزل السلى أخذ عينات من الزغابات المشيمائية بزل الحبل السري خزعات من الجنين (جلد، كبد...)



(الشكل 11-4): التشخيص الوراثي قبل الولادة.

(الجدول 11-3): الاختبارات المجرة على خلايا سائل السلى وعلى الجزء الطافي منه.

- تعيين جنس الجنين.
- تعيين النمط النووي للجنين.
- مقاييسات الكيمياء الحيوية لدى الجنين. (مقاييسات الإنزيمات في الجنين)
- تشخيص الدنا الجنيني.

2.8.11 . اعتيان الزغابات المشيمائية (Chorionic Villi Sampling):

يجرى أخذ عينات من الزغابات المشيمائية للجنين منذ الأسبوع العاشر من الحمل وبعد ذلك. وقد أصبحت هذه التقنية متوفرة في معظم مراكز طب الجنين.

عادة ما تؤخذ الخزعة تحت توجيه التصوير بفائق الصوت، ويتم ذلك عبر جدار البطن أو عبر المهبل. توفر كل خزعة نحو 5-30 ملغ من النسيج، يمكن استغلالها لإجراء فحوص تعيين الجنس، وكذلك تعيين النمط النووي، وإجراء اختبارات الكيمياء الحيوية، وتحاليل الدنا. يمكن إجراء التحاليل المباشرة للصبغيات الجنين في خلال 24 ساعة، ولكن بسبب مشكلة التزريق في عينات الزغابات المشيمائية، يفضل دائماً أن يُتبع هذا التحليل المباشر للصبغيات بتحليل آخر يتم على الخلايا المزروعة من العينة بعد 2-3 أسابيع (عينة مقدارها 5 ملغ عادة ما تكون كافية لتحليل الصبغيات). أما تحاليل الدنا أو تحاليل الكيمياء الحيوية فيمكن أن تتم في غضون أسبوع إلى أسبوعين، غالباً دونما حاجة لزرع الخلايا من العينات.

يقتصر ظهور معظم حالات التزريق الموجودة في عينات الزغابات المشيمائية على المشيمة، ولا تعبر عن التزريق في الجنين، وقد يحتاج الأمر إلى بزل السلى لاحقاً في 1-2% من المرضى الذين أخذ منهم عينات سابقة، من أجل المساعدة على تأكيد ذلك.

3.8.11 . بزل الحبل السري، وأخذ خزعة من جلد أو كبد الجنين

Cordocentesis, fetal skin biopsy & fetal liver biopsy

تحت توجيه التصوير بفائق الصوت، يمكن تمرير إبرة دقيقة عبر جدار البطن في داخل الحبل السري، أو من المشيمة من أجل أخذ عينة من دم الجنين، أو من أجل عمل نقل دم للجنين حينما يكون داخل الرحم. يمكن إجراء هذا الاختبار منذ الأسبوع الثامن عشر من الحمل وما بعده. يكون معدل إسقاطات الجنين جراء هذا الاختبار نحو 1%. توجد أيضاً خطورة من حدوث نزف بين الجنين والأم، مع حدوث أو المساعدة على حدوث تمنيع إيسوي رئصي عند الأم.

يمكن تشخيص بعض اضطرابات الجلد الخطيرة مثل انحلال الجلد الفقاعي Epidermolysis bullosa بواسطة أخذ خزعة من جلد الجنين عن طريق منظار الجنين (Fetoscope)، وفي بعض حالات الاضطرابات الاستقلابية التي تحدث عرضياً، يعتبر أخذ خزعة من كبد الجنين ضرورة من أجل التشخيص.

4.8.11 . الخلايا الجنينية في الدورة الدموية للأم (Fetal cells in the maternal circulation)

يوجد الكثير من الشواهد على أن عدداً قليلاً من الخلايا المنوأة للجنين تمر إلى الدورة الدموية للأم طوال فترة الحمل. تشمل هذه الخلايا، الكريات البيضاء للجنين، والخلايا الحمراء المنوأة، وخلايا الأرومة الغاذية (المغذية) Trophoblastic cells.

والمحاولات جارية على قدم وساق للحصول على وفرة من الخلايا الجنينية بقصد تحقيق تشخيص قبل الولادة باستعمال تحاليل الدنا عن طريق تفاعل سلسلة البوليمراز (PCR) Polymerase chain Reaction، أو بطرق التهجين التآلقي في الموضع Fluorescence *in situ* hybridization. حتى الآن ليست هذه التقنية بالكفاءة التي يمكن الاعتماد عليها لتشخيص اختلال الصبغة الصبغية Aneuploidy، ولكن يعتبر التقدم واعداداً بالنسبة لتلك التقنية. ولأنها طريقة غير باضعة يمكن الاعتماد عليها في التشخيص قبل الولادي، فلا بد أن تكون لها الأفضلية على جميع الطرق الحالية.

9.11 . اختطار الرجعة وطرز الوراثة Recurrence Risk and Patterns of Inheritance:

تعدّ المظاهر الوراثية للحالة واختطار الرجعة (وهو معدّل عَوْدُ توارّد المرض في الذرية) من المعلومات المهمة للعائلة لأن كل أفراد العائلة تحتاج إلى معرفة خياراتها التوالدية. ويمكن شرح وراثيات الاضطراب بمساعدات بصرية (مثل صور الصبغيات) ومن المهم شرح نسبة الحدوث واختطار الرجعة بشكل دقيق من أجل مختلف أفراد العائلة، بما فيهم الأفراد غير المصابين. وفي الحالات التي لا يمكن فيها وضع تشخيص نهائي، فإنه من الضروري استخدام اختطارات رجعة تجريبية.

يجب أن يعطي الاستئصال الوراثي الأفراد المعلومات الضرورية لفهم الخيارات المتنوعة لاتخاذ قراراتهم المستنيرة الخاصة بهم فيما يتعلق بالحمل، التشخيص قبل الولادة، إنهاء الحمل. وإتمام هذا الجزء من العملية التنقيفية قد يكون ضرورياً الحصول على أكثر من جلسة استئصال واحدة.

1.9.11 . الاضطرابات الوراثية حيال العائلية Genetic vs Familial Disorders:

يعتمد تشخيص الاضطراب الوراثي على طراز سريري محدد بأعراض وعلامات مميزة للحالة، أو على التأكيد المخبري للجين المتبدل أو لمنتجات الجين المترافقة مع الاضطراب. غالباً ما يُدعم التشخيص من خلال إدراك طراز الوراثة ضمن العائلة.

من المهم التمييز بين الأمراض الوراثية والعائلية. الاضطراب الوراثي هو ما كان سببه بالكامل أو جزئياً اختلال المادة الوراثية. تحدث بعض الاضطرابات الوراثية عند عدد من أفراد العائلة، وتحدث أخرى بشكل فرادي عند أفراد وحيدين في العائلة دون حالات رجعة. الاضطراب العائلي هو ذلك الذي يكون أكثر شيوعاً في أقارب الفرد المصاب منه في عموم السكان. تكون بعض الاضطرابات العائلية موروثة، بينما تنتج أخرى بسبب التعرض البيئي (التسمم بالرصاص). لا يساعد إدراك طراز الوراثة في التشخيص السريري فقط، وإنما يوفر أيضاً المعلومات من أجل استتصاح أفراد العائلة حول اختطار الرجعة في الحمل القادمة.

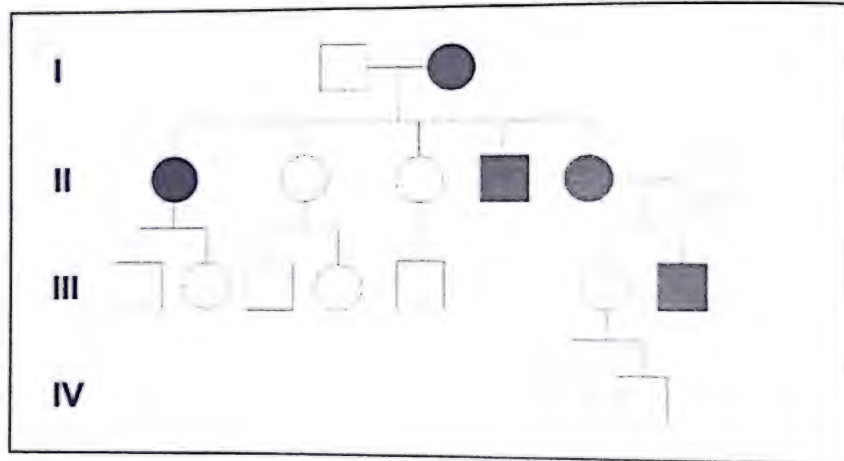
2.9.11 . الوراثة الصبغية الجسدية السائدة Autosomal Dominant Inheritance:

الجينات الصبغية الجسدية autosomal هي التي تكون على واحد من الصبغيات الـ 22 غير الجنسية، والاضطرابات الصبغية الجسدية السائدة هي تلك التي تكون فيها جين وحيدة في حال متغاير الألائل كافية لكي تسبب النمط الظاهري. تبدي الاضطرابات الصبغية الجسدية السائدة بعض الملامح التي تسري في معظم الأحوال:

1. يظهر الاضطراب على طراز عمودي في شجرة النسب، حيث يوجد أفراد مصابون في كل جيل.
2. لدى أي طفل من والد مصاب اختطار 50% لوراثة الاضطراب.
3. لا ينقل أفراد العائلة الأسوياء نمطياً ظاهرياً phenotypically الحالة لنسلهم.
4. يصاب الذكور والإناث بشكل متساوٍ.
5. تنتج نسبة مهمة من الحالات عن طفرة جديدة.

يمكن تمييز الاضطرابات الصبغية الجسدية السائدة عن الحالات المرتبطة بالصبغي X من خلال ظهور الانتقال من ذكر لذكر في الجيل الأول (الشكل 11-5). بسبب نقل الرجال للصبغي Y، وليس الصبغي X لأبنائهم الذكور فإن الوراثة المرتبطة بالصبغي X تنفى إذا مر المرض الوراثي من الأب إلى ابنه. تبدي الاضطرابات الصبغية الجسدية السائدة وبشكل نموذجي اختلافاً كبيراً في النمط الظاهري بين أفراد العائلة المصابين. ينجم هذا وبشكل شائع جداً عن التعبير Expressivity المتغير للجين الطافر. إن السبب الدقيق للتعبير المتغير مجهول لكن تتوافق على الأرجح مع تأثير الجينات المحورة والبيئة على النمط الظاهري. في بعض العائلات، لا يملك حملة الأليل السائد مظاهر نمطية ظاهرية واضحة للحالة. يسمى ذلك انتفاذ ناقص reduced penetrance وهو ظاهرة "الكل أو اللا شيء". في بعض

الحالات، عندما يبدو أن فرداً غير نافذ Non Penetrant فقط، يُظهر المريض في الواقع إما تزيقاً جسدياً Somatic mosaicism منخفض الدرجة أو تزيق الخط الانتاشي germ line للجين. ينشأ التزيق الجسدي في المضغة من طفرة في خلية جسدية إذ تُظهر المضغة في خلاياها مزيجاً من الأنماط الجينية بعضها مع وأخرى بدون الطفرة. يظهر هؤلاء الأفراد وبشكل نموذجي تأثيراً قليلاً أو معدوماً للجين المتبدل. ينشأ تزيق الخط الانتاشي في المضغة أيضاً بعد الإخصاب وهو محصور في تلك الخلايا التي هي طلائع البويض أو النطاف. لوحظ تزيق الخط الانتاشي وبشكل شائع في حالات مثل تكون العظم الناقص ومتلازمات تعظم الدروز الباكر: متلازمتا أبيرت وكروزون. لأن جرعة واحدة فقط من الجين المتبدل ضرورية للتعبير عن النمط الظاهري في الاضطرابات الصبغية الجسدية السائدة، فإنه غالباً ما تعقب الحالة طفرة جديدة عند كثير من الأفراد المصابين. كلما كان الاضطراب وخيماً ارتفعت النسبة المئوية للحالات الناجمة عن طفرات جديدة للجين. في الاضطرابات الوخيمة، يحدّ نقص القدرة التوالدية من نقل الجين من جيل لجيل. لوحظ في بعض حالات الطفرة الجديدة أن عمر الأب متقدم (>40 سنة).



(الشكل 11-5): شجرة نسب تعرض وراثية نموذجية لشكل من الصّم الحسي العصبي الموروث كخلة صبغية جسدية سائدة.

3.9.11 . الوراثة الصبغية الجسدية المتنحية Autosomal Recessive Inheritance:

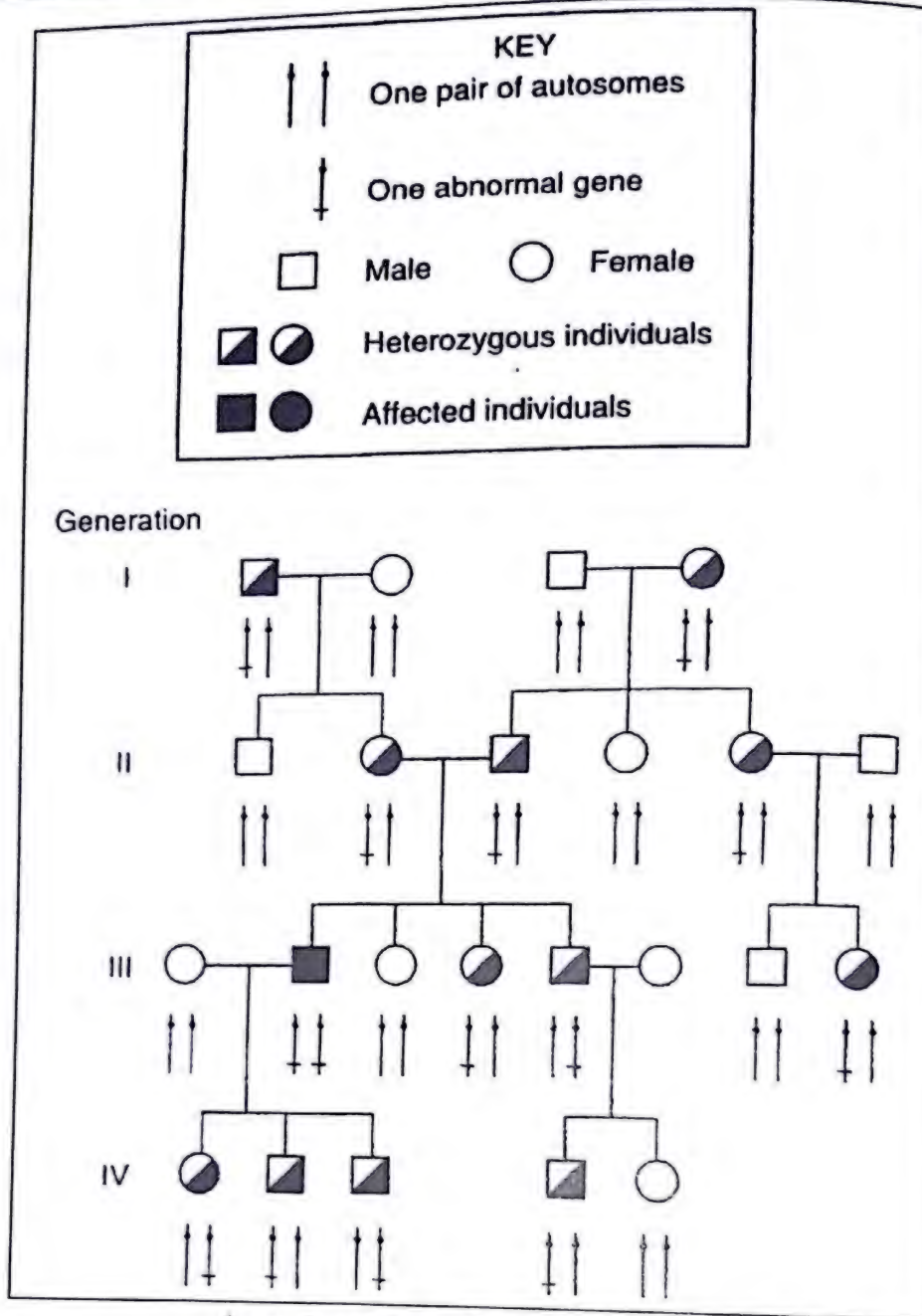
إن الوراثة الصبغية الجسدية المتنحية هي تلك التي تكون فيها الأليلان المتنحيان لجين معينة (في حالة زيجوت متماثلة الألائل) ضروريان لكي يحدث النمط الظاهري. يتطلب ذلك أن يكون كلا والدي الفرد المصاب حامليين متغايري الألائل بالنسبة للجين أو مصابين. بشكل عام، إن الاضطرابات الصبغية

الجسدية المتنحية هي أقل شيوعاً من الحالات الصبغية الجسدية السائدة، رغم أن تواتر الحامل للعديد من مثل هذه الجينات في الحالة متغايرة الألائل قد تكون شائعة في عموم السكان. تعرض شجرة النسب التي توضح بالرسم هذا الطراز من الوراثة (الشكل 11-6) المميزات التالية: لدى طفل لوالدين متغايري الألائل فرصة 25 % لكي يكون الطفل ذا زيجوت متماثلة الألائل (أي فرصة من اثنتين ليرث الجين الطافر من كل والد: $1/2 * 1/2 = 1/4$)، يصاب الذكور والإناث بتواتر متساوٍ، يكون الأفراد المصابون مولودين في جيل واحد فقط من العائلة، ويكون جميع أطفال الشخص المصاب (ذي زيجوت متماثلة الألائل) متغايري الألائل، يمكن أن يكون أطفال ذي الزيجوت متماثلة الألائل مصابين فقط إذا كان الزوج متغاير الألائل وهو حدث نادر بسبب الوقوع incidence المنخفض لمعظم الجينات المتنحية الضارة في عموم السكان.

من المرجح أن يملك كل إنسان عدداً من الجينات المتنحية الضارة النادرة لكون هذه الجينات الطافرة وبشكل كبير غير قابلة للتعرف عليها من خلال الاختبارات المخبرية، فمن المعتاد أن يعلم الكاهل Adult متغاير الألائل بجيناته المتنحية المؤذية بعد ولادة طفل ذي زيجوت متماثلة الألائل (ومن ثم مصاب). ومن المرجح كثيراً أن يكون الوالدان ذوا القرى متغايري الزيجوت من أجل نفس الجينات المتنحية المؤذية لأنهم يملكون الجد المشترك نفسه.

تُظهر الاضطرابات الصبغية الجسدية المتنحية بعض الملامح التي تنطبق في معظم الأحوال:

1. تملك الاضطرابات الصبغية الجسدية المتنحية طرازاً أفقياً في شجرة النسب (إذا أصيب أكثر من عضو في العائلة، فهم وبشكل نموذجي أشقاء المستلفت، وليسوا والدين أو أقرباء آخرين).
2. يصاب الذكور والإناث بشكل متساوٍ.
3. يكون والدا الطفل المصاب حاملين متغايري الألائل عديمي الأعراض بالنسبة للجين.
4. إن اختطار الرجعة بالنسبة للأشقاء 25%.

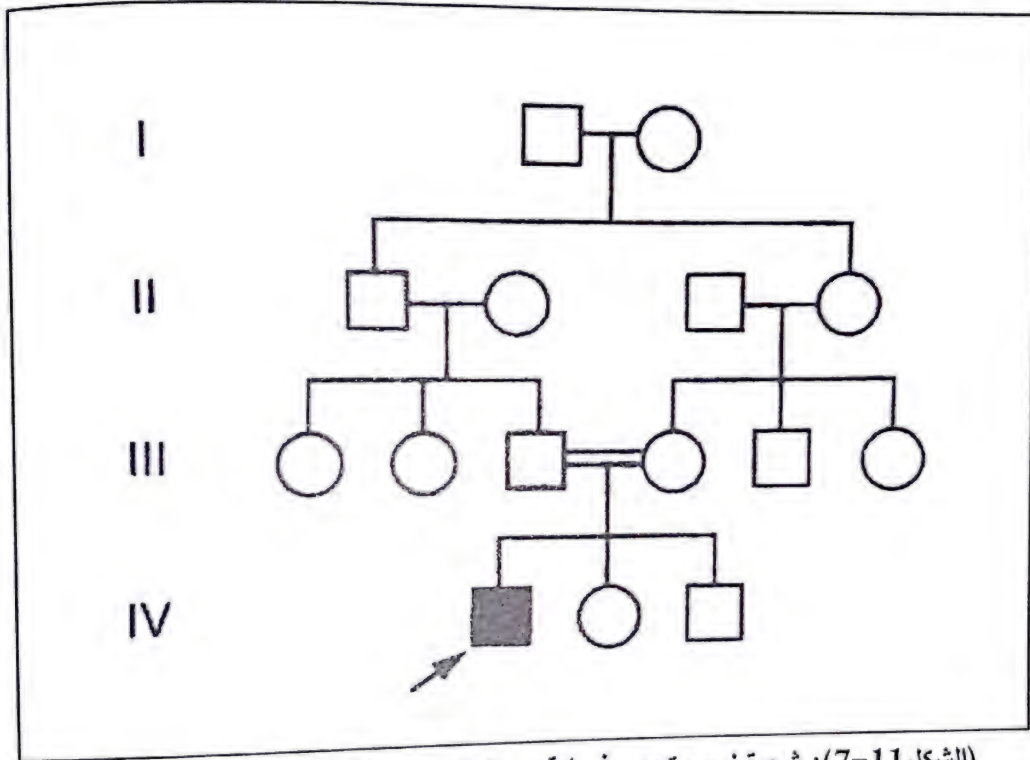


(الشكل 11-6): وراثة صبغية جسدية متنحية.

4.9.11 . القربى Consanguinity :

تزداد فرصة أن يحمل كلا الوالدين الأليل الطافر نفسه إذا كان الزوج ذو قربي (الشكل 11-7). تعرف القربى Consanguinity بالانحدار من جد مشترك. تدل القربى بين والدي الطفل المصاب باضطراب وراثي مشتبه به على الوراثة الصبغية الجسدية المتنحية (لكن لا تبرهن). ورغم أن زيجات القربى غير شائعة في المجتمع الغربي، تكون في بعض أجزاء العالم شائعة (جنوب الهند، والباكستان، والشرق الأوسط). يبلغ الاختطار في نسل زواج أولاد العم أو الخال أو العمة أو الخالة (6-8%)، وهو نحو

ضعف الاختطار في عموم السكان (3-4%). يوجد بعض المعزولات الجينية Genetic isolates (جمهرات صغيرة منفصلة بسبب الجغرافيا، أو الدين، أو الثقافة، أو اللغة) تكون فيها الاضطرابات النادرة أكثر شيوعاً من عموم السكان. حتى ولو لم تكن القرى شائعة عند هذه الجمهرات، لأن خيارات التزاوج محدودة، فإن فرصة أن يكون لدى زوجين، ضمن هذه المجتمعات المعزولة، طفلاً لديه حالة صبغية جسمية متنحية قد تكون مرتفعة إلى الحد الذي نراه في زيجات أولاد العم من الدرجة الأولى. لقد تطورت برامج التقصي عند مثل هذه الزمر للتعرف على متغايري الألائل ذوي الاختطار لامتلاك أطفال مصابين.



(الشكل 11-7): شجرة نسب توحى فيها قرى الوالدين بوراثة صبغية جسمية متنحية.

5.9.11. الوراثة المرتبطة بالصبغي X, X-Linked Inheritance:

إن الاضطرابات المرتبطة بالصبغي X هي تلك المترافقة مع جينات متبدلة على الصبغي X. تظهر معظم الاضطرابات المرتبطة بالصبغي X طراز وراثة متنحي، لكن وصفت بشكل جيد حالات قليلة سائدة. تختلف مميزات الحالات المرتبطة بالصبغي X بشكل كبير عن الاضطرابات الصبغية الجسمية لأن الإناث يرثن نسختين من الصبغي X، فقد يكن متغايرات الألائل أو نادراً متماثلات الألائل من أجل أي أليل في موضع معين، وهكذا تسلك الجينات المرتبطة بالصبغي X عند الإناث كجينات الصبغيات الجسمية. بسبب تعطيل X (وهي عملية عشوائية تحدث باكراً في تخلق المضغة الأنثى)، فإن صبغي X

واحد فقط يكون نشيطاً في كل خلية. ومن ثم، سوف تنتج الأنثى التي تكون متغايرة الألائل من أجل أليل طافر مرتبط بالصبغي X 50% من المقدار الطبيعي، بشكل مماثل لحالة متغايرة الألائل الصبغية الجسدية المتنحية. يكفي هذا عادة من أجل تشكّل نمط ظاهري طبيعي. لأن الذكر يرث صبغي X واحد فقط، فهو فرداني الأليل من أجل كل الجينات الموجودة في كل المواضع على طول الصبغي، ويتم التعبير عن كل الجينات. إذا ورث ذكر جيناً متبدلاً مرتبطاً بالصبغي X، فإنه سوف يعبر عن هذه الحالة، لأن الصبغي Y لا يحوي أليلاً طبيعياً لكي يعاوض الجين الطافر.

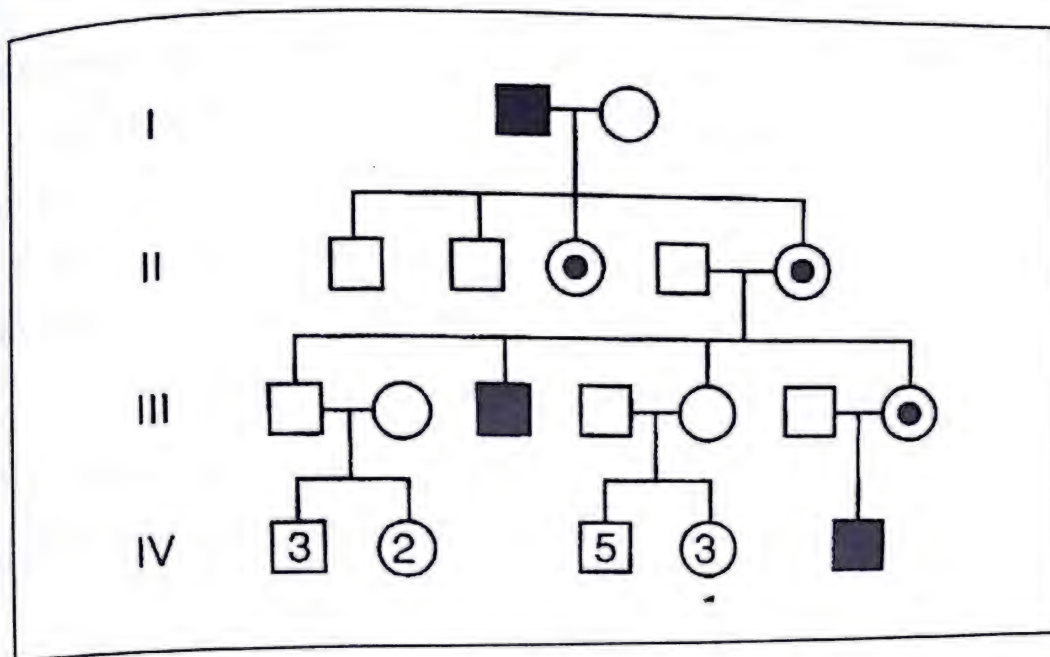
1.5.9.11. الوراثة المتنحية المرتبطة بالصبغي X

X-Linked Recessive Inheritance

تنطبق بعض الملامح في معظم أحوال الوراثة المتنحية المرتبطة بالصبغي X:

1. إن وقوع الحالة هو أكثر عند الذكور منه عند الإناث.
2. الحملة الإناث متغايرات الزيجوت هن عادة غير مصابات.
3. تنتقل الجين من رجل مصاب إلى كل بناته، ويملك أي من أبناء بناته فرصة 50% لوراثة الجين.
4. لا تنتقل الجين أبداً من الأب إلى ابنه.
5. قد تنتقل الجين عبر سلسلة من الإناث الحاملات. في تلك الحالة، يكون جميع الذكور المصابين ذوي قرى من خلال الإناث الحاملات.
6. تكون نسبة كبيرة من الحالات الفردية تالية لطفرات جينية جديدة (الشكل 11-8).

توجد أحوال قد تكون فيها الإناث مصابات بحالات متنحية مرتبطة بالصبغي X. إذا حمل كلا الوالدين أليلاً متنحياً مرتبطاً بالصبغي X، فإنه يمكن لفتاة أن ترث الجين المتبدل في حالة متماثلة الألائل. لكن، بسبب ندرة معظم الاضطرابات المرتبطة بالصبغي X المتنحية، فإن هذه الحالة غير مرجحة (باستثناء في حالة القرى). إذا كان لدى فتاة متلازمة تيرنر (45X)، تكون فردانية الألائل بالنسبة لكل جينات الصبغي X، وتعبّر عن كل جيناتها في كل المواضع بشكل مماثل للذكر. وهكذا، إن الاضطرابات المرتبطة بالصبغي X هي أكثر شيوعاً عند الإناث المصابات بمتلازمة تيرنر. في النهاية، وبسبب كون تعطيل X عشوائياً، فإنه يتبع توزيعاً سوياً في المضغة. ومن ثم، سوف يكون هناك قلة من الإناث اللواتي لديهن بالمصادفة أحد صبغيي X معطلاً بشكل كامل تقريباً. كثيراً ما يلاحظ هذا الطراز المتجانف skewed من تعطيل X عند الإناث اللواتي يبدن اضطرابات متنحية مرتبطة بالصبغي X.

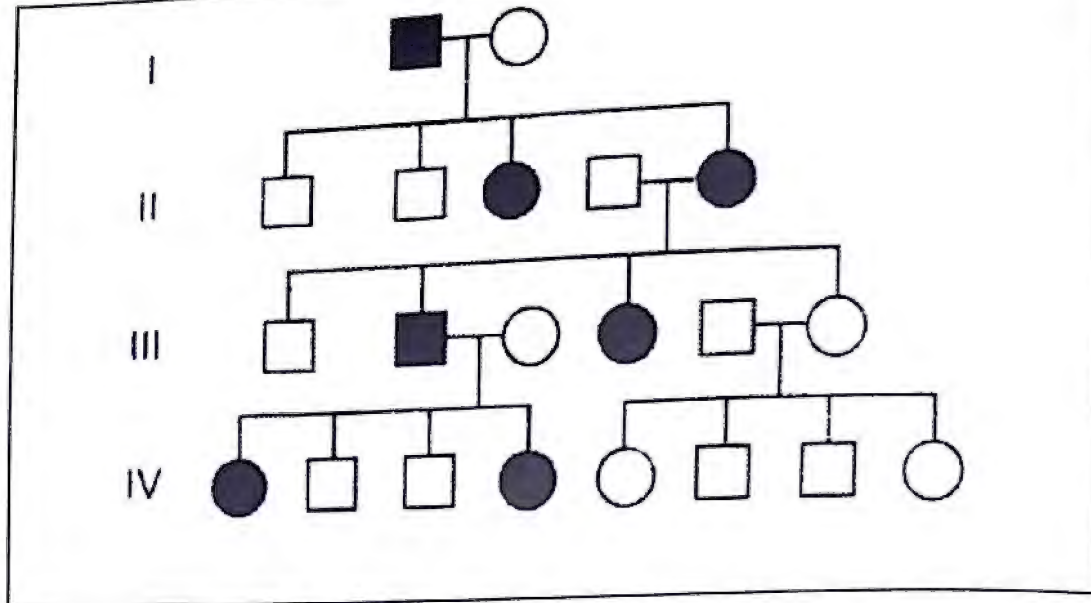


(الشكل 11-8): طراز شجرة نسب يظهر اضطراباً متنحيّاً مرتبطاً بالصبغي X مثل الناعور A، منتقل من ذكر مصاب عبر إناث إلى الحفيد وابن الحفيد.

2.5.9.11. الوراثة السائدة المرتبطة بالصبغي X: X-Linked Dominant Inheritance

يوصف الاضطراب المرتبط بالصبغي X بالسائد إذا عبّر عن الحالة بشكل منتظم عند الإناث الحاملات متغايرات الألائل. تضم مميزات الوراثة السائدة المرتبطة بالصبغي X:

1. تصاب بالحالة جميع بنات الرجل المصاب دون أن يصاب أي ابن.
2. لدى نسل الإناث المصابات سواء الإناث أم الذكور اختطار 50% لوراثة الحالة.
3. في الحالات السائدة المرتبطة بالصبغي X النادرة، تكون الإناث المصابات نحو ضعف الذكور المصابين، لكن لدى الإناث المصابات وبشكل نموذجي مظاهر أخف، رغم أنها متغايرة في النمط الظاهري (الشكل 11-9).



(الشكل 11-9): طراز شجرة نسب تظهر وراثة سائدة مرتبطة بالصبغي X.

6.9.11. الوراثة المتعددة العوامل Multifactorial Inheritance:

إن معظم الشذوذات الخلقية المعزولة الشائعة (عيوب الأنبوب العصبي، الشفة المشقوقة، شفة مشقوقة وفلح حنكي معزول، حنك القدم club feet، وعيوب حاجزية قلبية)، والكثير من الاضطرابات الشائعة في حياة الكاهل (مثل الداء السكري، فرط ضغط الدم، السكتة Stroke، داء الشريان التاجي، الفصام) هي مورثة بطريقة متعددة العوامل. إن الاضطرابات المحددة على أنها متعددة العوامل هي تلك التي تكون نتاج عوامل متعددة لا جينية. إن العوامل الجينية المؤهبة لهذه الاضطرابات متغيرة المنشأ ومجهولة بشكل كبير.

تضم مميزات الاضطرابات المحددة على أنها متعددة العوامل التالي:

1. يوجد معدل اختطار رجعة متشابه (3-5%) بين جميع أقرباء الدرجة الأولى (الوالدان، الأشقاء، ونسل الطفل المصاب). لكن من غير المعتاد أن نجد زيادة مهمة في الاختطار عند الأقرباء الأكثر بعداً من الدرجة الثانية بالنسبة للحالة الدالة index case.
2. يرتبط اختطار الرجعة بوقوع الداء.
3. لدى بعض الاضطرابات ميل للجنس، كما يشار إليه بوقوع ذكر: أنثى غير متساوي. إن تضيق البواب أكثر شيوعاً عند الذكور، بينما يكون خلع الورك الولادي أكثر شيوعاً عند الإناث. حيث توجد نسبة جنس متبدلة، يكون الاختطار أعلى بالنسبة لأقرباء الحالة الدالة في الجنس ذي الإصابة الأقل شيوعاً. إن اختطار إصابة ابن أنثى مصابة بتضيق بواب طفلي هو 18%.

بالمقارنة مع 5% اختطار إصابة ابن ذكر مصاب. لقد مرّرت الأنثى إلى نسلها استعداداً جينياً أكبر.

4. إن أرجحية إصابة كلا التوأمين المتماثلين Identical twins بنفس التشوه هي أقل من 100% لكن أكثر من فرصة إصابة التوأمين غير المتماثلين. يتراوح تواتر التوائم في التوأمين من 21% إلى 63%. يتعارض هذا التوزع مع ذلك الذي في الوراثة المندلية التي يتشارك فيها دائماً التويمان المتماثلان باضطراب ناجم عن جين وحيد طافر.

5. يزداد اختطار الرجعة عندما يكون أفراد متعددون في العائلة مصابين، غالباً ما تكون هذه الحالات إشكالية من حيث تمييز السببيات المتعددة العوامل عن المندلية. مثال بسيط: إن اختطار رجعة الشفة المشقوقة والفلح الحنكي الوحيد الجانب هو 4% في حالة زوجين عندهما طفل مصاب، ويزداد إلى 9% في حال وجود طفلين مصابين.

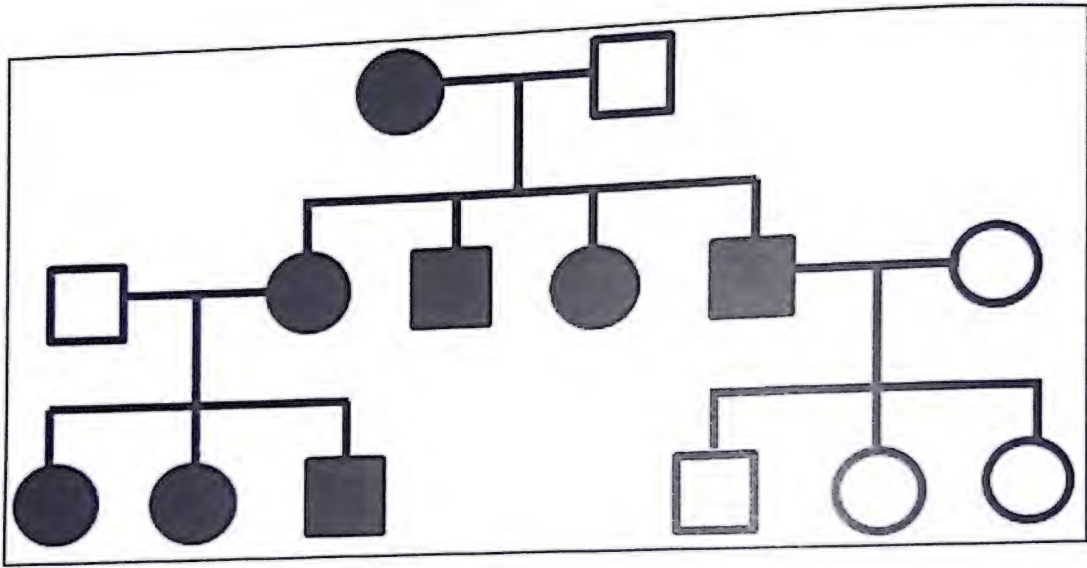
6. قد يكون اختطار الرجعة أكبر عندما يكون الاضطراب أكثر وخامئاً. لدى الرضيع الذي عنده داء هيرشبرينغ طويل القطعة القلونية المصابة بفقد التعصيب فرصة أكبر ليصبح عنده شقيق مصاب من الطفل الذي لديه داء هيرشبرينغ قصير القطعة.

7.9.11. طرز الوراثة غير التقليدية Nontraditional Patterns of Inheritance:

تورث الاضطرابات الوراثية في بعض الأحيان بطرائق لا تتبع فيها الطرز العادية من وراثة سائدة، أو متنحية، أو مرتبطة بالصبغي X، أو متعددة العوامل. تشمل هذه الطرز اللانموذجية للوراثة في بعض الأحيان أمراضاً معينة، وفي أمثلة أخرى قد تنطبق على أي اضطراب وراثي. تظهر بعض الأمراض طراز وراثة لا نموذجية لأنها تنتج عن طفرات الدنا المتقدري (mtDNA). تحوي المتقدرات صبغيات دائرية صغيرة ترمز 13 بروتيناً تعمل في السلسلة التنفسية. يمكن لطفرات المجين المتقدري (التي هي على الأغلب أخبان) أن تنتج أمراضاً نوعية. تشاهد الشذوذات في هذه الاضطرابات وبشكل نموذجي في عضومعين أو أكثر: الدماغ، العين، العضل الهيكلي، من الأمثلة متلازمة كيرن - ساير واعتلال العصب البصري الوراثي لليبر Leber's. لأن المتقدرات تورث عملياً وبشكل استثنائي من الأم. تمر هذه الحالات من الأم إلى الذرية بغض النظر عن جنس الأخير (وهكذا يتم التفريق عن الوراثة المتنحية المرتبطة بالصبغي X).

تسبب طفرات mtDNA مرضاً فقط بوجود الكثير من المتقدرات الطافرة: 50%-60% في حالة أخبان كبيرة وحيدة، و 80%-90% في حال طفرات نقطية. لا تتوزع الجهمرات المتقدرية بشكل متساوٍ في كل النسج. تُظهر بعض المتقدرات ميزة تنسخية نسبة للجهمرات المتقدرية الموروثة الأخرى. وهكذا، يوجد

تغير كبير في الأعراض ضمن العائلة، وقد تكون الوراثة المشاهدة أكثر تعقيداً من طراز أمومي بسيط رغم عدم شيوعها، فقد تحدث طفرات mtDNA (الأخبان) من خلال الوراثة الأبوية. إن وجود اعتلال عضلي أو مرض عصبي، يبدو أنه آت من جانب الأم، يجب أن ينبه الطبيب السريري على احتمال وجود سبببات متقدّرية. تقليدياً، تخضع متقدّرات النطفة للتخرب من قبل البروتينات المرمزة في نواة البويضة. يمكن في حالات نادرة وراثة mtDNA من الأب عندما تملك متقدّرات الأب ميزة تنسخية عالية أو يكون تخرب المتقدّرات موهناً Attenuated (الشكل 10-11).



(الشكل 10-11): طراز شجرة نسب تظهر وراثة متقدّرية.

10.11. معالجة الأمراض الوراثية Treatment of Genetic Diseases:

يوجد اعتقاد خاطئ أن المرض الوراثي دائماً لا يمكن معالجته. ولكن في الممارسة العملية، يوجد في متناول اليد علاج عرضي لمعظم الأمراض الوراثية، وبعض هذه المعالجات يمكن أن تعيد الحالة السليمة بشكل فعال، بالرغم من استمرار وجود النمط النووي الشاذ.

10.11.1 . الاضطرابات الصبغية Chromosomal Disorders:

بالنسبة لاضطرابات بعض الصبغيات الجنسية، فقد تتيح المعالجة التعويضية بالهرمونات إلى التطور السليم لبعض الصفات الجنسية الثانوية، ولكنها لن تعيد الخصوبة إلى الفرد. عدم التوازن في الصبغيات

الجسدية عادة ما يؤدي إلى الإعاقة الدماغية والكثير من التشوهات الولادية، التي لا يتاح لها إلا تقديم المعالجة العرضية.

2.10.11 . اضطرابات الجين الفردي Single Gene Disorders:

يوضح (الجدول 11-4) بعض اضطرابات الجين الفردي الأكثر شيوعاً التي قد وجد لها علاج فعال. زيادة على ذلك فقد سمحت تقنيات الهندسة الوراثية في إنتاج مركبات قليلة التكلفة نوعاً ما، (مثل الإنسولين، العامل الثامن، هرمون النمو البشري). ويتواصل العمل في الأبحاث بهدف التمكن من التعويض الجيني، بمعنى آخر إضافة جين وظيفي من الخلايا الجسدية، إلى مريض متماثل الألائل بالنسبة لجين طافر. تمت المعالجة التعويضية الجينية الناجحة لأول مرة في حالة نقص المناعة المشتركة الوخيمة Severe combined immune deficiency الناتجة عن نقص الأدينوزين دي أميناز Adenosine deaminase، وهناك محاولات الآن لاستعمال هذه التقنية في حالات عديدة مختلفة من اضطرابات الجين الفردي التي ينقصها علاج فعال.

(الجدول 11-4): أمثلة على اضطرابات الجين الفردي مع تطبيق العلاجات الفعالة.

المرض	العلاج الفعال
فرط التنسج الكظري الولادي	المعالجة الهرمونية التعويضية
بيلة الفنيل كيتون	تحديد الفنيل الانين القوتي (Dietary)
الغلاكتوزيمية	تحديد الغلاكتوز القوتي
الناعور	المعالجة التعويضية بالعامل الثامن
نقص المناعة المشترك الخيم	زرع نقي العظام
بيلة السيستين (Cystinuria)	تناول كمية كبيرة من السوائل، د-بنسلايين
داء السليالات القولونية (Paplypesis coli)	استئصال القولون
فقد غاماغلوبيين الدم (Agammaglobulinemia)	التعويض بالغاماغلوبيين
التلاسيمية بيتا	زرع نقي العظام
بيلة حمض المثل مالونيك	فيتامين B12
داء تعدد الكيسات في البالغين	زرع الكلية
داء ويلسن	د- بنسلايين
فرط الكوليسيترول الدم العائلي	الحمية والأدوية
تكور الكريات الحمر الوراثي	استئصال الطحال
داء الصباغ الدموي (Hemochromatosis)	الفصادة المتكررة

3.10.11. الاضطرابات متعددة العوامل Multifactorial Disorders:

يوضح (الجدول 11-5) بعض الاضطرابات متعددة العوامل الأكثر شيوعاً التي يوجد لها علاجات فعالة ناجحة.

(الجدول 11-5): أمثلة على اضطرابات متعددة العوامل، ولها علاج فعال.

المرض	العلاج الفعال
فلح الشفة والحنك	الجراحة
تضييق البواب	الجراحة
الداء القلبي الولادي	الجراحة، والمعالجة الدوائية
مَوء الرأس	الجراحة، والمعالجة الدوائية
الداء السكري	المعالجة الدوائية
فرط الضغط الشرياني	المعالجة الدوائية
الصَّرَع	المعالجة الدوائية

4.10.11. اضطرابات الميتوكوندريا Mitochondrial disorder:

لا يوجد في الوقت الحاضر إلا المعالجة العرضية للاضطرابات الناجمة عن صبغيات الميتوكوندريا.

5.10.11. الاضطرابات الجينية للخلايا الجسدية Somatic cell genetic disorders:

يعتقد الآن أن معظم -إن لم يكن كل- أنواع السرطانات هي اضطرابات جينية للخلايا الجسدية. توجد بعض المعالجات الشافية لبعضها، ولكن كثير منها معالجات ملطفة، وبعضها الآخر تكون المعالجة عرضية فقط.

11.12. الاستئصاح والمتابعة Counseling and Follow Up:

يحتاج الاستئصاح الوراثي إلى الإلمام بالحالة من جميع النواحي، ويجب أن يأخذ التعمق في الشرح مستوى ثقافة الزوجين في عين الاعتبار. قد يكون مناسباً أن يبدأ الناصح الوراثي بشرح الملامح السريرية والمضاعفات وسير المرض وعقابه، ثم الخيارات العلاجية والتكيفية المناسبة، بعد ذلك يمكن شرح الأساس الوراثي وراء المرض وقد يساعد وجود بعض النماذج والأشكال التوضيحية، ثم بعد ذلك يمكن حساب مدى اختطار الرجعة.

يتطلب عدد من الاضطرابات الوراثية عناية اختصاصية محددة مثل متلازمة تيرنر Turner الذي يحتاج إلى التقييم من قبل اختصاصي غدد صمّ. يجب تشجيع العائلات على المتابعة والاستمرار بطلب

الاستئصاح الوراثي لمجاعة المعلومات الجديدة والتطورات الحديثة في تشخيص ومعالجة الاضطرابات الوراثية الخاصة بهم.

يكون الاستئصاح الوراثي غير توجيهي Non-directive بشكل عام في معظم البلدان المتقدمة ذات الأنظمة الصحية الحديثة. إذ تُترك خيارات التوالد للعائلة لتقرر الذي يناسبها. إن دور الناصح (طبيب، ممرضة، اختصاصي وراثة طبية) هو توفير معلومات طبية بمصطلحات قابلة للفهم وإيجاز مجال الخيارات المتوفرة.

الفصل الثاني عشر الوراثة المناعية Immunogenetics

المحتويات Contents

- 1.12. وراثيات الجهاز المناعي السوي
- 2.12. العوز المناعي الوراثي
- 3.12. نقل الدم
- 1.3.12. الزمر الدموية
- 2.3.12. مجموعة الزمرة الدموية الريسية
- 3.3.12. الداء الانحلالي للوليد
- 4.12. زرع الأنسجة
- 1.4.12. مركب التوافق النسيجي الرئيسي
- 2.4.12. نقل الدم
- 3.4.12. زرع الأنسجة

1.12. وراثيات الجهاز المناعي السوي (Genetics of the normal immune system):

إن الوظيفة الأولى للجهاز المناعي هي التعرف على المستضدات الغريبة (أي غير المنتمية للجسم نفسه)، ومن ثم مهاجمتها. وتشمل هذه المستضدات معظم البروتينات، وبعض عديدات السكريد (Polysaccharides) والأحماض النووية.

تمتلك الاستجابة المناعية عنصرين أساسيين : خلوي وخطي، كما يوضحه الشكل المبسط التالي (الشكل 1-13). في الاستجابة الخلوية (Humoral) تنتج أضداد نوعية منذ الأسبوع العشرين من الحمل وما يليه، وذلك بتبنيه الخلايا للمفاوية بيتا، وكذلك الخلايا البلازمية (Plasma cells). الأضداد المتكونة عبارة عن غلوبولينات مناعية (الشكل 12-2)، وهي مهمة كاستجابة للعداوى بالجراثيم. أما الاستجابة المناعية الخلوية فتقوم بها الخلايا للمفاوية التائية، التي إذا نبهت بشكل نوعي، تتحول إلى الخلايا T الفاعلة (T. effector cells). يوجد للخلايا للمفاوية التائية تحت مجموعات (Subsets)، فبعضها يحفز الاستجابة المناعية (الخلايا T المساعدة أو $CD4^+$)، وبعضها يقلل من الاستجابة المناعية (الخلايا T المثبطة Suppressor) ومنها الخلايا المحطمة (الخلايا T السامة للخلايا $CD8^+$ cytotoxic). تعتبر الاستجابة المناعية الخلوية مهمة في تفاعلاتها نحو الخلايا السرطانية الخبيثة، والأنسجة المزروعة، والميكروبات داخل الخلايا من فيروسات وجراثيم وفطور.

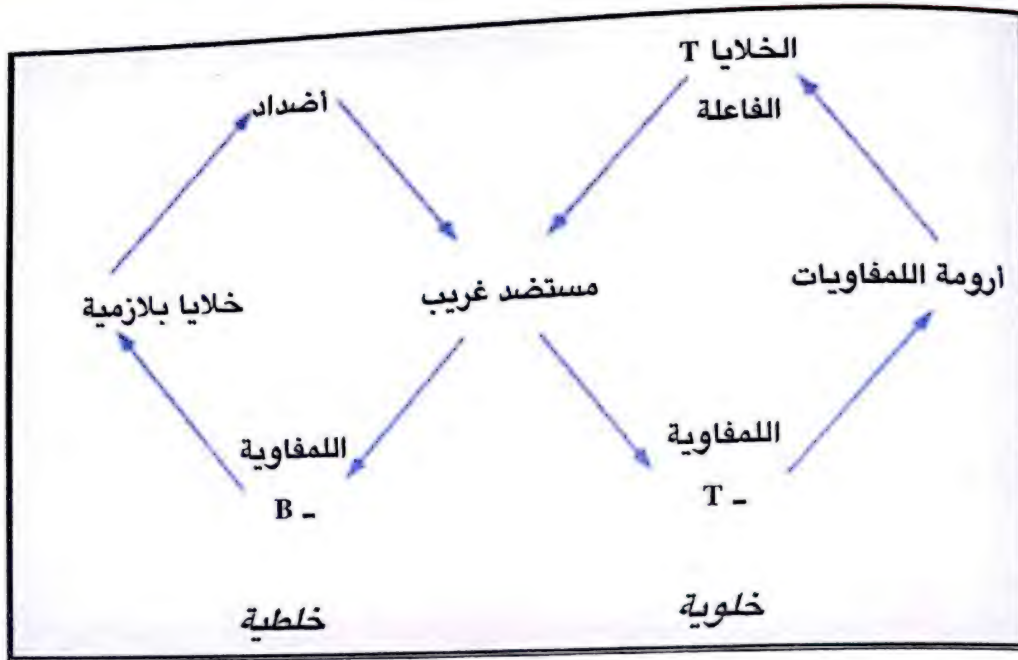
يوجد نمطان للسلاسل الخفيفة : كابا (K) (Kappa)، ولمبدا (L) (Lambda). تتشابه السلاسل الخفيفة في جميع أصناف الغلوبولينات المناعية، ولكن كل صنف له النوع المميز الخاص من السلاسل الثقيلة (جدول 1-12). تتكون كل سلسلة من الغلوبولينات المناعية من ثلاث مناطق، المنطقة المتغيرة V (Variable region). عند النهاية النثروجينية (N)، وهي جزء من موضع اتحاد الأضداد، والمنطقة الثانية تسمى منطقة التفاضل J (Junctional)، وأخيراً المنطقة الثابتة C (Constant). بجانب ذلك، يوجد في السلاسل الثقيلة منطقة قصيرة بين منطقتي J و V وتسمى منطقة التنوع D (Diversity region).

تتكون عناقيد الجينات (Gene clusters) المسؤولة عن السلاسل الثقيلة من 200 جين بالنسبة لـ (V)، و50 جين بالنسبة لـ (D)، وستة جينات بالنسبة لـ (J) وجين أو أكثر بالنسبة لـ (C) (الشكل 12-3). في داخل الخلية البلازمية، وعن طريق عملية تأشيب جسدي (Somatic recombination)، يتوضع جنباً إلى جنب، جين (V) مع جين (D) مع جين (J) مع جين (C)، وتنسخ جميعها إلى جزيء واحد من الرنا المرسال (mRNA). ثم يقص باقي دنا هذه المجموعة، ويعمل كواسم للخلية للمفاوية بيتا.

يمكن أن تتكون ارتباطات عديدة من VDJ، لينتج عن ذلك 12000 ارتباطاً محتملاً من (VDJ). بجانب ذلك، هناك إمكانية إقحام نوكلوتيدات إضافية عند نقاط الاتصال لهذه الجينات، كما يمكن لهذه الجينات أن تتعرض لطفرات جسدية بعد تكوينها، مما يؤدي إلى زيادة كبيرة في التنوع (Diversity). وبالرغم من أن هذه التآشب من (VDJ) تبقى ثابتة في الخلية البلازمية، وكل ما ينتج عنها من خلايا، يمكن أن يحدث تحول في الصنف للجين (C)، على سبيل المثال من IgM إلى IgG، ولكن النوعية المستضدية (Antigenic specificity) تبقى دون تغيير. يتم ذلك بدءاً بالتضفير البديل (Alternative Splicing) للرنا المرسل، ومن ثم إعادة ترتيب الدنا. تتكون مستقبلات الخلية بيتا من الضد (عادة IgM)، ومن ثم فإن الخلية البلازمية التي تستجيب لمستضد مختلف سيكون لها تعبير مختلف من الاتحاد (VDJC).

يكون لدى مجموعة الجينات الخاصة بالسلاسل الخفيفة كابا وللمبدأ بنية متشابهة، مكونة من 200 جين (V) و 4 جين (J)، ولكن في المقابل لديها جين واحد (C)، ولا يوجد لديها جين (D) (الشكل 12-4). تُنتج كل خلية بلازمية سلسلة خفيفة واحدة فقط من (VJC)، وتكون إما سلسلة كابا أو سلسلة لمبدأ، وليس كلاهما معاً. هذه المقدرة على أن كل مجموعة من الجينات تنتج مجموعة مختلفة من عديد الببتيد، هي استثناء مهم للقاعدة التي تقول إن: لكل جين يوجد عديد ببتيدي واحد.

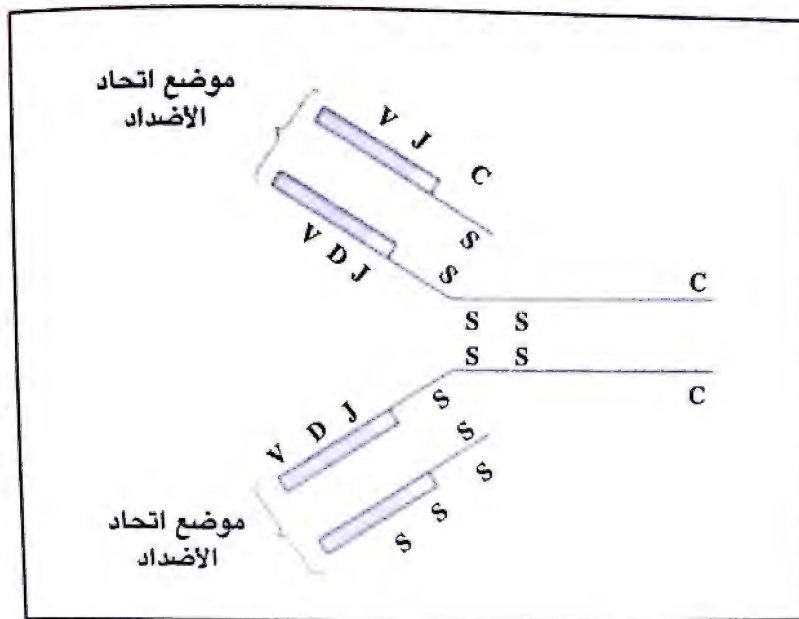
تتعرف اللمفاويات التائية بوساطة مستقبل خاص على المستضدات الغريبة (حينما تُهَيَّأ) ومن ثم تقدم لها على سطح خلية أخرى، وبمصاحبة جزيئات مركب التوافق النسيجي الرئيسي. على الرغم من أن بنية مستقبلات الخلايا التائية تختلف جوهرياً عن مستقبلات الخلايا البائية، فإن البنية الجينية لكلا نوعي المستقبلات متشابهة إلى حد بعيد. تتكون مستقبلات الخلايا التائية من سلسلتين: ألفا وبيتا، ولها على الأقل من الجينات 50 (V)، 50 (J) للسلسلة ألفا، أما السلسلة بيتا فلديها على الأقل 80 جيناً (V)، وواحد أو اثنان من الجين (D) وأخيراً 13 جيناً (J).



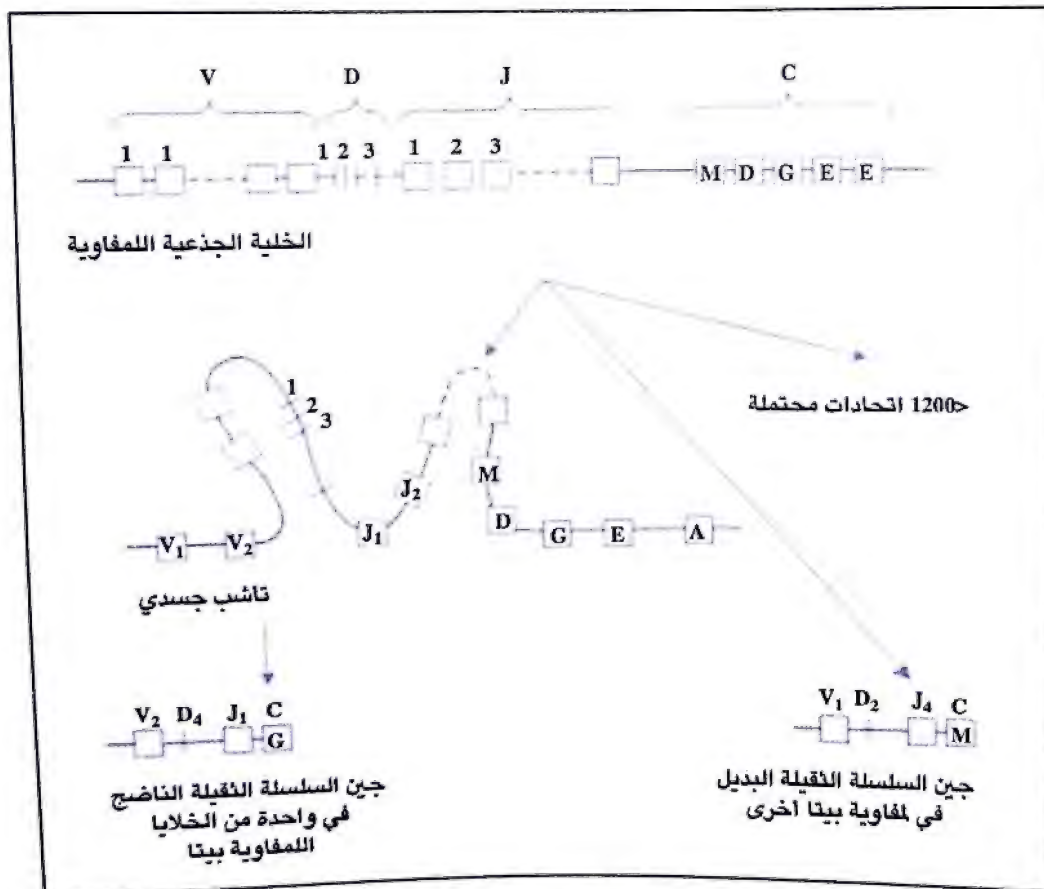
(الشكل 1-12): العناصر المكونة للاستجابة المناعية.

(الجدول 1-12): أصناف الغلوبولينات المناعية.

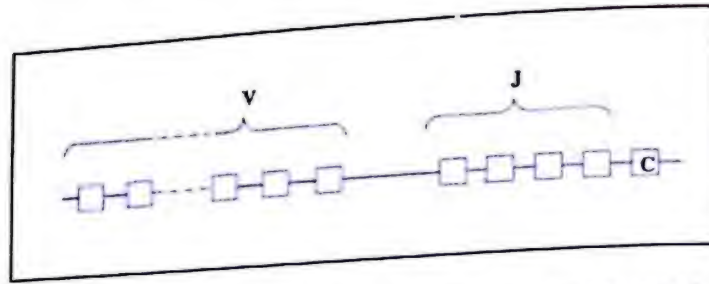
الصنف	الوزن الجزيئي	السلسلة الثقيلة	السلسلة الخفيفة	التعليق
IGg	150000	γ	k أو λ	وفير؛ الصنف الوحيد الذي يعبر المشيمة؛ يظهر في أواخر الاستجابة المناعية.
IgM	900000	μ	k أو λ	يسبق IgG في الاستجابة المناعية
IgA	160000	α	k أو λ	المناعة السطحية
AgD	185000	δ	k أو λ	غير معلوم الوظيفة
AgE	200000	ϵ	k أو λ	الاستجابة الأرجية



(الشكل 12-2): نموذج لجزيء الغلوبولين المناعي.



(الشكل 12-3): جين السلسلة الثقيلة من الغلوبولينات المناعية، مع تكوين التسلسل للأضداد المختلفة.



(الشكل 12-4): جين السلسلة الخفيفة من الغلوبولينات المناعية.

2.12. العوز المناعي الوراثي (Inherited immunodeficiency):

يمكن أن تحدث العيوب الوراثية في أي واحد من الاستجابتين المناعيتين (الخلطية والخلوية) أو في كليهما. تعتمد الأعراض والعلامات على ما تبقى من آليات دفاع لدى الفرد. وعلى الرغم من كون حالات العوز المناعي نادرة، فإنها تظهر تغيّراً وراثياً (Genetic heterogeneity) كبيراً، تكون فيه عيوب تكوين الأضداد الأكثر شيوعاً (حوالي 50 %)، إضافةً إلى عيوب في الخلايا البلاعم Phagocytes (6 %)، وعيوب في بروتينات المتممة (4 %)، إضافةً إلى عيوب في الطهاية (البلعمة المتوسطة بالأضداد) (5-7 %). يُظهر الجدول (2-12) عدداً من حالات العوز المناعي الوراثي مع طرز وراثتها.

(الجدول 2-12): عوز المناعة الوراثي.

(AR: Autosomal Recessive, XR: X-linked recessive, AD: Autosomal Dominant)

طراز الوراثة	المرض
AR, XR	نقص الوراثة المشترك الوبيل
XR (أنواع مختلفة) AR, occ	فقد الجاما جلوبيولين من الدم
XR	متلازمة وسكوت - ألديتش
XR, occ, AR	الداء الحبيبي المزمن
AR	متلازمة شيدياك - هيجاشي
AR	رنح توسع الشعيرات (Ataxia telangiectasia)
خبث صغير في الصبغيات	متلازمة دي جورج
XR	فقد البرويردين (Properdin deficiency)
XR	متلازمة التكاثر اللمفاوي
	(Lymphoproliferative syndrome)
AD	عيب الطهاية (Opsonic defect)

وسنقتصر في هذا الفصل على الحديث عن مثالين عن أهم تطبيقات المناعيات الوراثية يختصان بنقل الدم وزرع الأنسجة.

12. 3. نقل الدم Blood Transfusion

1.3.12. الزمر الدموية (Blood groups):

تحدد الزمر الدموية عن طريق مستضدات بروتينية على سطح الكريات الحمراء. لقد تم وصف نحو 400 مستضد للزمر الدموية، ومن كل هذه الزمر تعتبر مجموعة ABO والمجموعة الريسية أهمها جميعاً. توجد أربعة أنماط ظاهرية رئيسية (Phenotypes) هي: (O، A، B، AB) التي يمكن تعيينها عن طريق التفاعل بين الخلايا الحمر للفرد: بإضافة أضداد A وأضداد B نوعية (الجدول 12-3).

(الجدول 12-3): الأنماط الظاهرية للزمر الدموية ABO.

التفاعل مع مصول مضادة نوعية		
النمط الظاهري للكريات الحمر	مضاد (A)	مضاد (B)
(O)	(-) سلبي	(-) سلبي
(A)	(+) إيجابي	(-) سلبي
(B)	(-) سلبي	(+) إيجابي
(AB)	(+) إيجابي	(+) إيجابي

توجد مستضدات ABO أيضاً على معظم خلايا الجسم الأخرى بما في ذلك الخلايا البيضاء والصفائح. يمتلك الأفراد من الزمرة الدموية A مستضد A على كرياتهم الحمر، والأفراد من الزمرة الدموية B مستضد B، وأصحاب الزمرة AB لديهم كلا المستضدين B+A، أما أصحاب الزمرة O فلا يوجد على كرياتهم الحمر مستضد B أو A. الأفراد الذين يملكون زمرة A لديهم أضداد IgM ضد (B) راصات سوية (Isoagglutinins) في مصلهم، في حين أن الأفراد ذوي الزمرة B لديهم أضداد ضد A، وذوي الزمرة O لديهم أضداد ضد A وضد B.

لقد تم التعرف على ثلاثة ألائل $O.A.B$ رئيسية على جين ABO ، ومن ثم هناك ستة احتمالات للأنماط الجينية (Genotypes)، هي (AB, BO, BB, AO, AA, OO) . الزمرة A والزمرة B تورثان كخلة توائمية (Codominant traits)، إذ تكون O متنحية لكليهما (جدول 12-4). وليس في الإمكان أثناء تعيين الزمر الدموية التفرقة بين AA من AO أو BB من BO وبالرغم من ذلك فيمكن معرفة ذلك من معلومات شجرة النسب أو بتحليل الدنا.

تحدد ألائل مجموعة ABO فعالية إنزيم غلايكوزيل الترانسفيراز Glycosyltransferase الذي يعدل من المستضد H (H-antigen) على سطح الخلية. يحتوي الأليل O على خبن في أساس فردانية تسبب إنزيم الإطار (Frameshift) مع إنتاج بروتين غير فعال. بالنسبة للأليل A فإنه يضيف عند النهاية N أستيل غالاكتوزامين. في حين يضيف الأليل B د- غالاكتوز للمستضد H . يختلف الأليل A عن الأليل B في كثير من مواضع النوكليوتيدات.

2.3.12. مجموعة الزمرة الدموية الريسية (Rhesus blood group system):

يوجد نمطان ظاهران رئيسيان للزمرة الريسية، إما ايجابية وإما سلبية، و يمكن تعيينهما بتفاعل الكريات الحمراء للفرد مع أضداد $(Anti-D \quad Rh)$. يملك الأشخاص ذوو العامل الريصي الإيجابي $(Rh+ve)$ مستضد (RhD) على الخلايا الحمراء والأنسجة الأخرى. في حين لا يملك الأشخاص السلبيون $(Rh-ve)$ هذا المستضد.

يحدّد النمط الظاهري الريصي بواسطة ناتج جينين متماثلين مجاورين، واحد منهما يرمز لعدد الببتيدات الخاصة بـ Ee ، Cc ، في حين أن الجين الآخر يرمز للبروتين D . يفتقد الأشخاص سلبيو العامل الريصي $(Rh-ve)$ الجين D ، في حين أن الأشخاص إيجابيين العامل الريصي $(Rh+ve)$ يكونون متغايري الألائل أو متماثلي الألائل D . يختلف الأليل E عن الأليل e باستبدال الأساس C بالأساس G عند الموقع 676 من الجين $(RHCE)$.

3.3.12. الداء الانحلالي للوليد (Hemolytic disease of the newborn):

هذا المرض عبارة عن فقر دم انحلالي مكتسب بسبب عبور الغلوبولينات المناعية من الأم عبر المشيمة. هناك سببان أساسيان: عدم توافق مجموعة زمر ABO ، والآخر هو عدم توافق العامل الريصي $(Rhesus Incompatibility)$. عدم توافق مجموعة زمر ABO بين الأم والجنين شائع نسبياً، ولكن حيث إن أضداد $(Anti A, Anti B)$ في مجملها تكون تابعة للغلوبولينات المناعية IgM ، لا تستطيع العبور عبر المشيمة،

فإن المرض السريري يميل إلى أن يكون خفيفاً. على العكس من ذلك فإن المرض الانحلالي العائد إلى عدم توافق العامل الريصي، رغم كونه أقل شيوعاً، يكون عادة شديداً، إذ أن أضداد (Anti D) تتبع الغلوبولينات المناعية IgG التي يمكنها العبور بحرية عبر المشيمة.

تمر كمية قليلة من دم الجنين إلى جهاز الدوران في الأم بشكل طبيعي أثناء الحمل. فإذا كانت زمرة الأم والجنين سلبية أو إيجابية للعامل الريصي، فلن يكون لذلك أهمية. في حين لو كانت الأم سلبية للعامل الريصي، وكان الجنين إيجابي للعامل الريصي، فإن الخلايا الحمراء التي تصل إلى دم الأم ربما نبهت الجهاز المناعي لتكوين أضداد (Anti-D) في دوران الأم. في هذه الحالة يقال عن المرأة التي كونت هذه الأضداد: إنها حسّست (Sensitized). إن دخول كمية قليلة من دم الجنين إلى دم الأم كافٍ لأن يحدث هذا التحسس أثناء الحمل، ولكن في الحقيقة يتم عبور الدم بشكل أكثر أهمية أثناء عملية الولادة، وهذا هو الوقت الذي يحدث فيه التحسس بشكل أكثر شيوعاً. يكون التحسس أكثر احتمالاً إذا وُجد توافق لمجموعة زمر ABO بين الأم والجنين، إذ يتيح ذلك أن تبقى الكريات الحمراء للجنين في دوران الأم ومن ثم تزيد من وقت التتبيه المناعي. يمكن للمرأة سلبية العامل الريصي (Rh-ve) أن تتحسس إذا نقل إليها دم من زمرة إيجابية للعامل الريصي، أو أحياناً بعد الإجهاض (تلقائي أو علاجي) وأحياناً بعد بزل السلي (Amniocentesis)، أو أخذ عينة من الزغابات المشيمائية.

لو حدث أن حملت المرأة المحسنة للعامل الريصي بجنين يكون إيجابي للعامل الريصي، ستعتبر الأضداد (Anti Rh) عبر المشيمة، وتتحد مع الكريات الحمراء إيجابية (Rh+ve) للجنين، وهذا يسبب قصر بقيا هذه الخلايا، مع زيادة الحاجة إلى إنتاج الكريات الحمراء. نتيجة لذلك يحدث فرط تنسج لنقي العظام وضخامة كبدية طحالية. يؤدي فقر الدم الشديد إلى فشل قلبي مع حدوث وذمات معمة (موه الجنين : Hydrops fetalis)، وقد يؤدي ذلك إلى موت الجنين بالرغم من نقل الدم الذي يمكن أن يطبق داخل الرحم. وفرة إنتاج البليروبين غير المرتبط المتكون نتيجة انحلال الكريات الحمراء أثناء وجود الجنين داخل الرحم، يطرح عن طريق المشيمة. ولكن بعد الولادة يزداد البليروبين غير المرتبط في مصل الوليد بسرعة، ويمكن أن يسبب أذية دماغية (يرقان نووي Kernicterus)، إلا إذا عولج عن طريق نقل الدم التبادلي (Exchange transfusion).

الوقاية:

في الشعوب القوقازية كان الداء الانحلالي الولادي يصيب 1% من جميع الولادات. وبشكل نموذجي لا يصاب الطفل الأول، إذ إن الحمل الأول يحدث التحسس فقط، ولكن تزداد شدة المرض مع الولادات اللاحقة حتى يأتي الوقت الذي لا يمكن تجنب موت الجنين داخل الرحم.

في سنة 1970، قدمت وسيلة للوقاية من المرض، وذلك عن طريق إعطاء الغلوبولين المناعي Anti- Rh (Anti- Rh D immunoglobulin)، عن طريق الحقن العضلي في مدى 72 ساعة فقط من ولادة طفل إيجابي للعامل الريصي (Rh+ve)، وتكون الأم سلبية (Rh-ve). حقن هذه الغلوبولينات المناعية ستساعد على التخلص من الكريات الحمراء الإيجابية التي عبرت إلى الأم، قبل إمكانية إحداثها التحسس في الأم. يمكن أيضاً إعطاء أضداد (Anti-Rh) للسيدة سلبية العامل الريصي (Rh-ve) بعد الإجهاض أو بزل السلى أو أخذ عينات من الزغابات المشيمائية.

مع استعمال هذه التقنية تناقص وقوع (Incidence) المرض الانحلالي الوليدي 0.54 لكل ألف. ولكن ما زالت بعض النساء يتحسسن بسبب عبور كميات قليلة من الدم أثناء الحمل، ونادراً ما تتحسس بعض السيدات لمكونات ريصية أخرى مثل (E) أو (C). بجانب ذلك، فإن بعض السيدات اللاتي لديهن خطورة لا يأخذن، لسوء الحظ، المصل المضاد Anti-Rh بعد الولادة مباشرة. وأخيراً بعضهن ينقل لهن دم غير مناسب (إيجابي العامل الريصي) (Rh+ve).

4.12. زرع الأنسجة Tissue Transplantation

قد ينقل نسيج فرد ما (المعطي Donor)، إلى فرد آخر (الآخذ Recipient). يعرف هذا الفعل بعملية الزرع، ويقسم الزرع حسب علاقة المعطي بالآخذ (الجدول 4-12).

(الجدول 4-12) : أنماط غرس الأنسجة.

النمط	علاقة الآخذ بالمعطي
طعم ذاتي (Autograft)	الشخص نفسه (الذات)
طعم إسوي (Isograft)	توأم متشابه (Identical twins)
طعم مثلي (Allograft)	نفس الفصيلة (النوع) (Same species)
زرع غيري (Xenograft)	بين أنواع مختلفة (Different species)

يعتبر زرع الأنسجة الذاتية أو الأسوية من المعطي، مشابهاً لنسج الآخذ من الناحية الوراثية، ومن ثم فإن الرفض (Rejection) عن طريق المناعة المتواسطة بالخلايا (Cell-mediated) لا يمثل أي إشكالية. وعلى عكس ذلك فإن غرس الأنسجة بين الأنواع المختلفة، (الزرع الغيري Xenograft)، يحدث رفضاً لها دائماً. وأخيراً فإن الزرع بين أفراد مختلفين ولكن من نفس النوع، سيحدث رفضاً لها في العادة، إلا إذا أجريت فحوص التوافق النسيجي، وطبق العلاج المثبط للمناعة. ومن أهم العناصر التي نهتم بها في حال زرع الانسجة والتي تؤدي إلى قبول أو رفض الطعوم هي مركبات التوافق النسيجي.

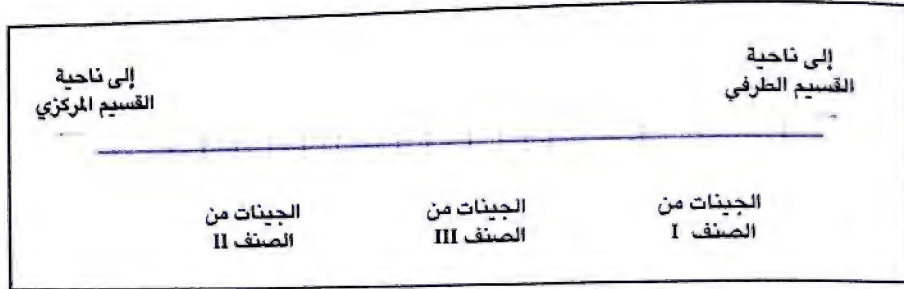
1.4.12. مركب التوافق النسيجي الرئيسي (Major Histocompatibility Complex (MHC)

مركب التوافق النسيجي الرئيسي عبارة عن تجمع كثيف من الجينات على الذراع القصير للصبغي 6، الذي يحتوي نحو 80 جيناً في شريط من الدنا طوله Mb4 (الشكل 12-5). تقسم هذه الجينات إلى ثلاثة أصناف (Classes). يحتوي الصنف III من الجينات على مكونات عديدة من مجموعة المتممة، مثلاً (C2، C4A، C4B، Bf)، والجين (Cyp21B). يعتبر الصنفان II، I مسؤولين عن تقديم المستضد المجهز (Processed) إلى الخلايا التائية، وعلى هذا الأساس فهما يؤديان دوراً حيوياً في تنظيم الاستجابة المناعية.

بشكل عام، يقوم الصنف I من الجينات بتقديم المستضدات إلى الخلايا التائية CD8+، التي تكون مسؤولة في المقام الأول عن الانسمام الخلوي المتوسط بالخلايا (Cell-mediated cytotoxicity) للخلايا المعداة بالفيروسات. أما الصنف II من الجينات فتقدم المستضدات إلى الخلايا التائية CD4+، التي تساعد الخلايا البائية لإنتاج الغلوبولينات المناعية المناسبة. يتوزع الصنف I من مركب التوافق النسيجي على سطح جميع الخلايا المنواة (عدا بعض خلايا الأرومة المغذية Trophoblast والنطاف والصفائح الدموية). يتوزع الصنف II من مركب التوافق النسيجي على سطح الخلايا للمفاوية بيتا، والخلايا المقدمة للمستضدات (Antigen-presenting cells) مثل الخلايا المتغصنة Dendritic Cells والبلاعم الكبيرة (Macrophages). معظم الجينات من الصنف I والصنف II تمتلك كثير من الألائل، التي يمكن التعرف عليها بمجموعة من الاختبارات المناعية وتحاليل الدنا.

يمكن أن تحدث أي مشاركة لهذه الألائل، وبالنظر إلى عدد الألائل التي يمكن أن تأخذ دوراً في تلك المشاركة، فمن غير المتوقع أن الأفراد غير الأقرباء، يمكن أن يكون لديهم نفس الطراز منها. تكون هذه الجينات قريبة بعضها من بعض فيزيائياً، ومن ثم فالألائل على كل صبغي تميل أن تورث بعضها مع بعض

بشكل نمط فرداني (Haplotype). ضمن العائلة يمكن تمييز الأنماط الفردانية لكل والد، وفي المتوسط 1 لكل 4 من أبنائهم سيكون لديه أنماط جينية من مركب التوافق النسيجي الرئيسي (MHC) المماثل، وهذا الشيء له أهمية تطبيقية في عملية زرع الأنسجة.



(الشكل 12-5): مركب التوافق النسيجي الرئيسي MHC.

2.4.12. نقل الدم (Blood transfusion):

يعتبر نقل الدم أكثر الأنماط شيوعاً من حيث زرع الأنسجة. لا بد من تعيين زمر ABO وكذلك العامل الريصي (RH) لكل من المعطي والآخذ، كما يتم التقصي (Screen) للأضداد اللانمطية، يخلط خلايا المعطي أيضاً مع مصل الآخذ في الزجاج (عملية التصالب Cross-matching).

+ : حدوث تراس

- : لا يحدث تراس

في العادة يعطي الدم من نفس الزمرة (ABO) كلما كان ذلك ممكناً، ولكن في الحالات الإسعافية، يمكن إعطاء زمرة أخرى كما هو مبين في (الجدول 12-5). يؤدي وجود أضداد (ABO) في بلازما الآخذ إلى تراس خلايا المعطي، إذا كان عليها المستضدات الموافقة لها، ولكن وجود الأضداد في بلازما المعطي ليس لها أهمية، إذ سيتم تخفيفها بسرعة في دوران الآخذ.

(الجدول 12-5): احتمال حدوث تفاعلات غير مرغوب فيها حين نقل دم غير مشابه.

زمرة الدم المعطي				زمرة دم الآخذ
AB	B	A	O	
+	+	+	-	O
+	+	-	-	A
+	-	+	-	B
-	-	-	-	AB

3.4.12. زرع الأنسجة:

يمكن الآن زرع أنواع مختلفة من الأنسجة، ويعتبر الاختبار النسيجي للمعطي أمراً حرجاً جداً. إذ يتعين أن يكون المعطي والآخذ من نفس الزمرة المستضدية للأنسجة إلى أقصى حد ممكن، ويمثل الأقارب أحسن فرصة لاحتمال توافق الزمر (ABO) وكذلك مركب التوافق النسيجي (MHC) ويمكن اختبار التوافق النسيجي مباشرة، بوساطة خلط الخلايا للمفاوية ذات الكفاية المناعية (Immune-competent lymphocytes) من كل من المعطي والآخذ (اختبار زرع خليط اللمفاويات Mixed lymphocyte culture test). فإذا كان التوافق جيداً لا يحدث رفض للنسيج المزروع، أما إذا كان التوافق ضعيفاً فسيحدث الرفض حتى رغم إعطاء مثبطات المناعة.

يعدّ الجنين من الناحية المستضدية مختلفاً عن أمه (طعم إسوي Allograft). ورغم ذلك لا يحدث رفض للجنين. إن غياب مركب التوافق النسيجي من الطبقة الخارجية لخلايا المشيمة ربما يؤدي دوراً في ذلك، وكذلك ربما وجود خلايا الجنين البيضاء في دوران الأم.

الفصل الثالث عشر علم الوراثة الدوائي PHARMACOGENETICS

المحتويات Contents

- 1.13. مقدمة
- 2.13. آليات تأثير العوامل الوراثية في الاستجابة للأدوية
- 3.13. أمثلة على الوراثة الدوائية
- 1.3.13. تأثير العوامل الوراثية في الحركيات الدوائية
- 1.1.3.13. التأثير في استقلاب الأدوية
- 2.1.3.13. التأثير في نقل الأدوية
- 2.3.13. تأثير العوامل الوراثية في الديناميكيات الدوائية
- 1.2.3.13. فرط الحرارة الخبيث
- 2.2.3.13. قصور القلب الاحتقاني
- 3.2.3.13. سرطان الثدي
- 4.13. الطب المجيني الفردي

1.13. مقدمة

جنب أحد العلوم الطبية حديثاً الكثير من الاهتمام لترجمة المعرفة في علم الوراثة في علاج المرضى، وهو علم الوراثة الدوائي Pharmacogenetics أو Pharmacogenomics، الذي يُعنى بدراسة الاختلافات الكثيرة في استجابة المرضى للأدوية بسبب التنوعات الأليلية في جيناتها وتآليات الدنا الأخرى المؤثرة في استقلاب وفعالية وسمية الدواء، ويمكن تعريف علم الوراثة الدوائي باختصار أنه العلم الذي يربط بين تآليات الجينات وبين الأدوية التي يتناولها المرضى.

في الواقع، تفشل المعالجات في ملايين المرضى حول العالم مما يؤدي إلى مئات الآلاف من حالات الوفاة سنوياً، وأشار كثير من الدراسات إلى أن معدل التباين في الاستجابة إلى بعض الأدوية لدى المرضى وصل مستويات عالية جداً يبينها (الجدول 1-13).

(الجدول 1-13): النسب المئوية لتباين الاستجابة لزمردوائية مختلفة

نسبة التباين	الزمرة الدوائية	نسبة التباين	الزمرة الدوائية
25%	Cancer Chemotherapy	80%	المسكنات Analgesics
60%	Depression	30%	أدوية الزهايمر Alzheimer
47%	AIDS	40%	السلس البولي Incontinence
60%	أدوية اضطرابات نظم القلب Cardiac Arrhythmias	50%	أدوية التهاب المفاصل الروماتويدي Rheumatoid Arthritis
60%	Schizophrenia	50%	أدوية الشقيقة Migraine
60%	Asthma	57%	أدوية الداء السكري Diabetes

في المقابل، يمكن لتطوير مرتسم جيني Genetic Profile، الذي يمكننا من توقع فعالية الدواء وسميته والتأثيرات الضائرة له (أو الضارة) Adverse Effects، أن يفيد مباشرة في إرشاد الأطباء لاختيار الدواء الذي يستفيد منه المريض بصورة مثلى دون اختطار الحوادث الضائرة، أو لتحديد الجرعة التي تضمن المعالجة الملائمة مع التقليل من الاختلاطات الناتجة عنها. وحديثاً، أدركت كثير من الهيئات العالمية المسؤولة عن الدواء، ومن أهمها منظمة الغذاء والدواء الأمريكية Food and Drug Administration FDA، أهمية التغيرات الوراثية الدوائية Pharmacogenetic Variations لدى الأفراد المستجيبين للمعالجة الدوائية عبر تضمين المعلومات الوراثية الجينية على لصاقات الكثير من الأدوية تجاوز عددها الـ 50 دواءً. مع التأكيد أن كثير من المناقشات لا تزال قائمة حول الجدوى الاقتصادية من الفحوص

الوراثية التي غالباً ما تكون مكلفة قبل البدء بالمعالجة تمهيداً لكي تصبح هذه الفحوص جزءاً من الفحوص الروتينية.

ولذلك كله، بزغ في العقدين الماضيين ما أطلق عليه بالطب الفردي (الشخصاني) personalized Medicine الذي يمكن تعريفه باختصار أنه الطب الذي يهدف إلى إعطاء الدواء المناسب بالجرعة المناسبة للمريض المناسب في الوقت المناسب، ويعتمد بشكل مباشر على التكوين الجيني للمريض Genetic Make Up، إذ غالباً ما يؤدي التباين في الاستجابة للأدوية بين أفراد المرضى إلى كون الكثير من الأدوية الموصوفة ليست آمنة وفعالة لدى جميعهم، وأن السبب الأساسي لذلك هو التباين في التكوين الجيني لديهم.

وسندرس في هذا الفصل بعض الأمثلة المهمة على تلك التغيرات في الاستجابة للأدوية التي تعكس التغيرات الجينية، وذلك بعد أن نشير باختصار إلى الآليات التي تكتنف الاختلافات وثيقة الصلة في التكوين الجيني للمرضى.

2.13. آليات تأثير العوامل الوراثية على الاستجابة للأدوية

Mechanisms of Genetic Factor Effects on Drug Responses

تشمل الآليات التي تغيّر من استجابة أي مريض للعلاج ثلاثة عوامل هي: استقلاب الدواء Drug Metabolism ونقل الدواء Drug Transport وشكل مستقبل الدواء Drug Receptor، حيث تتأثر الفعالية العلاجية للدواء بالإنزيم المُستقلب Metabolizing Enzyme أو البروتين الناقل Transport Protein أو البروتين المستقبل، التي يمكن أن تختلف أشكال وتراكيز وفعالية أي منها في الحالات التالية:

- وجود تعدد شكلي مفرد Single Nucleotide Polymorphism أو SNP في تسلسل الجين التي ترمّز هذه البروتينات، أو في تسلسلات الدنا التي تشارك في ضبط الفعالية الانتساخية لجينات هذه البروتينات، كالمحضّضات Promoters والمعرّزات Enhancers. ويعرّف الـ SNP أنه اختلاف في أساس نوكلّيوتيدي واحد في تسلسل الدنا، لكن يختلف عن الطفرة النقطية Point Mutation أن الـ SNP يكون منتشراً في أكثر من 1% من أفراد المجتمع بينما يكون معدل انتشار الطفرة النقطية عادةً أقل من ذلك بكثير، إضافةً إلى أن الـ SNP لا يؤدي بحد نفسه إلى حدوث مرض، بل ربما إلى تغيّر في استجابة المرضى للمعالجة، بينما غالباً ما تترافق الطفرات النقطية مع حالات مرضية.
- حوادث الإقحام والخبث Insertions-Deletions أو ما يُعرف بـ Indels التي تؤدي إلى إضافة أو حذف أكثر من أساس نوكلّيوتيدي، وقد يصل إلى المئات والآلاف من النوكلّيوتيدات، ضمن الجين أو التسلسلات المشاركة في ضبط انتساخها.

• حذف كامل الجين. فإذا كانت الجين المحذوفة مسؤولة عن التعبير عن أحد الإنزيمات المستقلة للدواء أو عن مستقبل الدواء نفسه، عندئذ يؤدي ذلك إلى تغيرات جوهريّة في تأثير الدواء. ففي حالة غياب الإنزيم المستقلب للدواء تتزايد تراكيز الدواء بشكل كبير ويطول نصف عمره Half Life مما قد يؤدي إلى تأثيرات سميّة كبيرة للدواء. أما في حال حذف جين مستقبل الدواء فيؤدي ذلك إلى إلغاء فعالية الدواء. والأخطر من ذلك، هو تراكم الدواء وحدوث ارتباطات غير نوعية للدواء بمستقبلات أخرى ومن ثم حدوث تأثيرات ضارة قد تكون سميّة.

• تضاعف الجين Gene Duplication. وهي حالة معاكسة لحذف كامل الجين. وتؤدي في حالة كون الجين ترمز أحد الإنزيمات المستقلة للدواء إلى انخفاض تراكيز الدواء ومن ثم انخفاض فعاليته العلاجية. أما في حالة تضاعف الجين المسؤولة عن مستقبل الدواء فيؤدي ذلك إلى زيادة فعالية الدواء التي قد تؤدي على تأثيرات سميّة أيضاً.

ولا بدّ أخيراً من الاهتمام بالحالة الخاصة التي يكون فيها الدواء المقدم للمريض هو طليعة دواء Prodrug. وتمثل هذه الحالة أدوية عديدة تعطى للمرضى بحالة غير فعالة، وتحتاج إلى إنزيمات مستقلة لتحويلها إلى شكلها الفعال، وتيسر ارتباطها بمستقبلاتها. حينئذ، تؤدي التعديلات الجينية السابقة، من SNPs و InDels وخبن وإقحام، إلى تغييرات مهمة في فعالية الدواء وتأثيراته الضائرة عندما ترمز الجين المتأثرة بإحدى هذه التعديلات أحد الإنزيمات المسؤولة عن استقلاب الدواء وتحويله من طليعة دواء إلى دواء فعال.

3.13. أمثلة على الوراثة الدوائية Examples of Pharmacogenetics

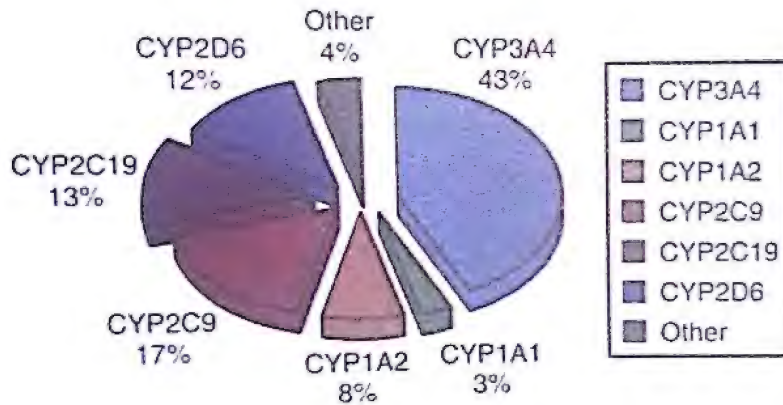
هنالك سبيلان لتأثير التغيرات الجينية على المعالجة الدوائية. الأول والتأثير في الحركات الدوائية Pharmacokinetics أو PK، وتتعلق بامتصاص Absorption وتوزيع Distribution واستقلاب Metabolism وإطراح Excretion الدواء أو ما تتم الإشارة إليه بالاختصار ADME وهي الأحرف الأولى للعمليات الأربع. والطريق الثاني هو التأثير على الديناميكية الدوائية Pharmacodynamics أو PD، التي ترتبط باختلافات في الفعالية الدوائية وغالباً ما تُعنى بتبدلات إلفة ارتباط الدواء بمستقبله. وهكذا، يشمل تأثير التغيرات الجينية على المعالجة كلاً من تأثير الجسم في الدواء (PK) وتأثير الدواء في الجسم (PD).

1.3.13. تأثير العوامل الوراثية في الحركات الدوائية Effects on Pharmacokinetics

سنذكر هنا عدداً من الأمثلة عن التأثيرات المتعلقة بالحركات الدوائية، وتحديدًا تلك الخاصة بالتأثير في استقلاب ونقل الأدوية.

1.1.3.13. التأثير في استقلاب الأدوية Drug Metabolism

تتألف بروتينات السيتوكروم P-450 المستقلية للأدوية من 56 إنزيماً فعالاً مختلفاً، ترمز كل منها جين *Cytochrome P* أو *CYP* مختلفة، ويمكن تصنيفها إلى 20 عائلة تبعاً للتشابه في البنية الأولية للبروتينات. يحتوي ثلاث من هذه العائلات، وهي *CYP1* و *CYP2* و *CYP3* الإنزيمات الأكثر انخراطاً في استقلاب ركانزها، حيث تشارك في استقلاب طيف واسع من المواد الآتية من خارج الجسم، التي يُطلق عليها مصطلح المواد الغريبة *Xenobiotics*، بما في ذلك الأدوية. تكون ست جينات من السيتوكروم P-450 مهمة تحديداً، هي *CYP1A1*، و *CYP1A2*، و *CYP2C9*، و *CYP2C19*، و *CYP2D6*، و *CYP3A4*، بسبب كون الإنزيمات التي ترمزها مسؤولة عما يزيد على استقلاب 90% من جميع الأدوية المستعملة في علاج الأمراض (الشكل 1-13).

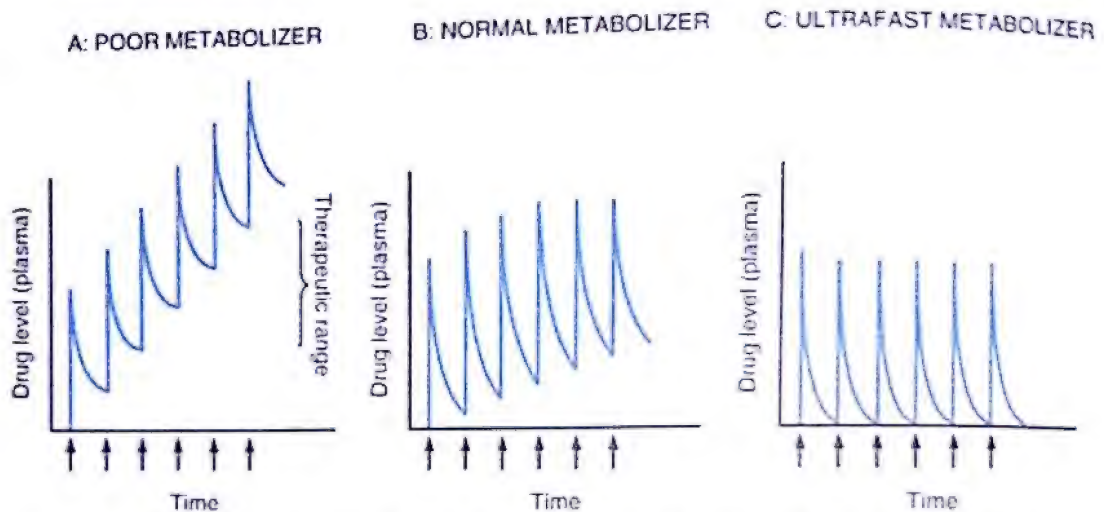


(الشكل 1-13) النسب المئوية لإسهام ست جينات CYP في استقلاب الأدوية العلاجية.

وبالنسبة إلى الكثير من الأدوية، يبدأ عمل إنزيمات السيتوكروم P-450 بإزالة السمية عبر تفاعلات تجعل الدواء أقل فعالية وأسهل إخراجاً. مع ذلك، تكون بعض الأدوية غير فعالة بنفسها بل على شكل طلائع أدوية *Prodrugs* تتحول إلى مُستقلبات فعالة دوائياً من خلال عمل السيتوكروم P450. ومن المهم جداً أن للكثير من جينات السيتوكروم تعددات شكلية، مع وجود أليلات تغيب معها الفعالية الإنزيمية، أو تنقص، أو تزداد، وبذلك تؤثر في السرعة التي تُستقلب فيها الأدوية وتؤثر بشكل كبير في النحول الذي يستجيب به المرضى لمعالجة الدوائية.

وعلى سبيل المثال، يمتلك إنزيم *CYP2D6*، وهو المسؤول عن استقلاب 70 دواءً مختلفاً، عشرات الأليلات التي تمتلك منتجاتها فعاليات استقلابية طبيعية، أو ضعيفة، أو سريعة جداً. تُنقص الطفرات المغلطة *Missense Mutations* من فعالية هذا السيتوكروم، بينما تنتج أليلات لا تظهر أي فعالية عن طفرات في عملية التضفير *Splicing* أو طفرات إنزياح إطار الترجمة *Frameshift Mutations* (أنظر الفصل العاشر). على العكس من ذلك، يكون الأليل *CYP2D6*1XN* عبارة عن سلسلة من

الأليلات مختلفة العدد تكون فيها جين CYP2D موجودة بثلاث أو أربع نسخ أو أكثر على أحد الصبغيات. وبشكل متوقع، ينتج عن ذلك فعالية عالية من لهذا الإنزيم. وينتج عن توليفات Combinations من تلك الأليلات ثلاثة أنماط ظاهرية Phenotypes للاستقلاب هي: النمط الطبيعي أو السريع Normal or Extensive، النمط البطيء Poor، والنمط السريع جداً Ultrafast (الشكل 13-2).



(الشكل 13-2) مستوى تراكيز الدواء لدى المرضى ذوي الاستقلاب (A) الضعيف، (B) الطبيعي، و(C) السريع جداً. ويبين الشكل تراكيم مستويات الدواء لدى إعطاء الجرعات المتعاقبة التي تمثلها الأسهم بالنسبة لما يدعى المجال العلاجي الموضح بالمستطيل الأزرق، الذي يرمز للمجال التي يظهر فيه الدواء فعاليته العلاجية، حيث تكون تراكيز الدواء الأقل من المجال العلاجي Therapeutic Range غير فعالة وتراكيز الدواء الأعلى من المجال سمية. عند ضعفي الاستقلاب (A) تتراكم مستويات الدواء لتتجاوز بعد عدد من الجرعات المجال العلاجي وتظهر السمية، أما لدى طبيعي الاستقلاب (B) تكون مستويات الدواء بعد جميع الجرعات ضمن المجال العلاجي نفسه، وأخيراً لدى سريع الاستقلاب (C) تكون تراكيز الدواء في أغلب الوقت أقل من المجال العلاجي ومن ثم لا تظهر الفعالية العلاجية المرغوبة لديهم.

واعتماداً على ما إذا كان الدواء نفسه فعالاً أو كان طليعة دواء يتطلب تفعيلاً بالسيتوكروم، يمكن أن يؤدي النمط البطيء للاستقلاب إلى تراكم مستويات سمية للدواء أو يفشل بالحفاظ على الفعالية الدوائية بسبب ضعف التفعيل لطليعة الدواء. في المقابل، يكون الأفراد ذوو الاستقلاب السريع جداً أمام اختطار ألا يحصلوا على معالجة فعالة بالجرعات الاعتيادية من الأدوية التي لا ينتج عنها مستويات من الدواء تكون ضمن مجال الفعالية الدوائية، أو يكونون عرضة لتلقي جرعة عالية نتيجة تحول سريع جداً لطليعة الدواء إلى مستقلب فعال. على سبيل المثال، يمتلك الكودئين Codeine فعالية مخدرة narcotic ضعيفة نتيجة تحوله البطيء للمورفين Morphine الذي يمتلك فعالية مخدرة أعلى بـ 10 مرات من الكودئين، ويتوسط التحول من الكودئين إلى المورفين إنزيم CYP2D6. يشيع الأفراد ذوو الاستقلاب البطيء في بعض المجتمعات، حيث يمتلكون أليلات تغيب عنها فعالية CYP2D6 لتحويل فاعل

للكودئين إلى مورفين مما يسبب ضعف الاستجابة لديهم للكودئين. في المقابل، يمكن أن تحدث السمية لدى ذوي الاستقلاب السريع جداً حتى بجرعات صغيرة من الكودئين. في الواقع، فقد توفي فعلاً عدد من المرضى الأطفال إثر تلقيهم جرعات عالية نسبياً من الكودئين نتيجة كونهم من ذوي الاستقلاب السريع جداً.

وكما هو الحال بالنسبة للكثير من أشكال التغيرات الجينية، يختلف تواتر عدد من أليلات السيتوكروم P450 بين جمهرات مختلفة (الجدول 13-2). على سبيل المثال، يوجد أليل للسيتوكروم CYP2D6 مسؤول عن ضعف الاستقلاب في واحد من كل 14 فرداً من العرق الأبيض بينما يكون نادراً في آسيا ويكاد يغيب كلياً لدى سكان أمريكا الأصليين (الهنود الحمر) وسكان جزر المحيط الهادي. وبشكل مشابه، تظهر أليلات ضعيفة الاستقلاب لجين CYP2C19 تغيرات كبيرة متعلقة بالإثنية Ethnicity، مع كون واحد من كل 33 فرداً من العرق الأبيض، وواحد من كل 6 آسيويين ضعيفي الاستقلاب. تكون هذه الاختلافات العرقية في تواتر الأفراد ضعيفي وسريعي الاستقلاب كبيرة الأهمية لتقديم الجرعات الفردانية Personalized Doses في الجمهرات المتغايرة عرقياً، أي مثل مجتمع الولايات المتحدة الأمريكية إذ تعيش كثير من المجموعات العرقية جنباً إلى جنب.

(الجدول 13-2): النسبة المئوية (%) لضعفي الاستقلاب ضمن الجمهرات السكانية المختلفة

الأصل العرقي للجمهرة	CYP2D6	CYP2C19
القارة الأفريقية جنوب الصحراء الكبرى Sub-Saharan Africa	3.4	4
الأمريكيون الأصليون Native American (الهنود الحمر)	0	2
العرق الآسيوي Asian	0.5	15.7
العرق الأبيض	7.2	2.9
الشرق الأوسط وشمال أفريقيا	1.5	2
جزر المحيط الهادي	0	13.6

2.1.3.13. التأثير في نقل الأدوية Drug Transport

تدخل الجزيئات الصغيرة إلى الخلية، ومنها كثير من الأدوية، في معظم الحالات بالانتشار البسيط عابرة الغشاء الخلوي. مع ذلك، يمكن أن تتم إعادة هذه الجزيئات، التي أصبحت الآن في هولى الخلية، وضخها إلى خارج الخلية عبر ناقلات فعالة Active Transporters كبروتينات P-Glycoproteins أو PGP's، وهي مضخات ترمزها جينات تدعى بجينات المقاومة المتعددة Multiple Drug Resistance أو MDRs بسبب فعالية هذه المضخات في طرد الأدوية خارج الخلايا والتسبب عبر ذلك بمقاومة الخلايا للعديد من الأدوية، وبخاصة، الأدوية الكيميائية المعالجة لمرضى السرطان، مع ملاحظة ارتفاع الفعالية الانتساختية لهذه الجينات المقاومة في خلايا السرطان.

من ناحية أخرى، يمكن لبروتينات PGP's في الأمعاء الدقيقة أن تسبب انخفاضاً في امتصاص الأدوية عبر الخلايا الظهارية المغلفة للأمعاء، إذ تقوم بضخ الأدوية مرة أخرى إلى لمعة الأمعاء وطرحها بعد دخول تلك الأدوية إلى الخلايا. وكمثال على دور التغيرات الجينية في نقل الأدوية، لوحظ وجود SNP هو (C3435T) في بروتين MDR1 لدى بعض المرضى الذين يتلقون المعالجة بالديجوكسين Digoxin لتقوية وظيفة العضلة القلبية لديهم. وقد ترافق هذا التعدد الشكلي لدى المرضى متماثلي الزيجوت Homozygotes للأليل الحاوي على الثيمين في الموقع 3435 مع مستويات عالية من الديجوكسين في مصل المرضى مما دلّ على نقص فعالية البروتين MDR1 في طرد الديجوكسين وإعادة تدويره إلى لمعة الأمعاء ومنع امتصاصه إلى الدم. وبما أن الديجوكسين من الأدوية التي لها مجال علاجي Therapeutic Range ضيق، يمتد من تراكيز الدواء التي تبدأ عندها الفعالية العلاجية للدواء بالظهور إلى تراكيز الدواء التي تكون سميّة، فإن ارتفاعاً بسيطاً في مستوياته المصلية يمكن أن يؤدي إلى سمية العضلة القلبية قد تكون قاتلة.

2.3.13. تأثير العوامل الوراثية في الديناميكيات الدوائية Effects on Pharmacodynamics

1.2.3.13. فرط الحرارة الخبيث Malignant Hyperthermia

إن فرط الحرارة الخبيث هو حالة نادرة لها وراثة جسمية سائدة تحدث فيها استجابة ضائرة عنيفة لإعطاء كثير من المخدرات الاستنشاقية الشائعة في العمليات الجراحية، مثل الهالوتان Halothane، أو المرخيات العضلية، مثل السوكسينيل كولين Succinylcholine. وسريعاً جداً بعد إعطاء المخدر، تتطور لدى المريض حمى مهددة للحياة، وتقلص عضلي مستمر. تكون الآلية الفيزيولوجية لهذا الاضطراب الشديد في ارتفاع مستويات أيونات الكالسيوم في الشبكة العضلية الداخلية Sarcoplasm لخلايا العضلات، مما يؤدي إلى صلابة في العضلات وارتفاع درجة الحرارة وانحلال سريع للعضلات.

Rhabdomyolysis. وتعدّ هذه الحالة سبباً شائعاً للموت خلال التخدير، مع معدل وقوع يبلغ 1 لكل 50 ألف مريض بالغ تحت التخدير بينما يكون معدل وقوعه لدى الأطفال أعلى بـ 10 أضعاف. يترافق فرط الحرارة الخبيث في 50% من الحالات مع تعددات شكلية معينة في جين تدعى RYRI، التي ترمز قناة أيونية للكالسيوم داخل خلوية. وهكذا، فإن من الضروري اختبار وجود هذه التعددات الشكلية لتجنب هذه الحالة وأخذ جميع الاحتياطات اللازمة خلال العمليات الجراحية للمرضى إيجابيين تلك التعددات الشكلية. ومن تلك الاحتياطات استخدام الأغذية الباردة والأدوية المضادة لاضطرابات نظم القلب، كما يمكن التفكير بالتخدير الموضعي أو بإعطاء مخدرات أخرى ذات عواقب أقل شدة على المريض.

2.2.3.13. قصور القلب الاحتقاني Congestive Heart Failure

في هذه الحالة تضعف القوة التقلصية لعضلة القلب مما يستوجب المعالجة بزمردوائية منها ما يدعى بحاجبات المستقبلات بيتا Beta-Receptor Blockers، وتقع هذه المستقبلات في أغشية الخلايا القلبية. وفي سبيل اكتشاف أدوية جديدة من هذه الزمرة، طوّرت إحدى الشركات دواءً جديداً أسمته بوسيندولول Bucindolol وهو حاصر لمستقبلات بيتا 1 الأدرنرجية Beta-1 Adrenergic Receptor في خلايا العضلة القلبية. وأبدت نتائج الدراسات في حيوانات التجربة فعالية عالية لهذا الدواء مما شجع على البدء بالدراسة على مرضى قصور القلب. إلا أن النتائج في المرضى أنت مخيبة للآمال إذ لم يبد هذا الدواء الفعالية المأمولة في تحسين نتاج القلب من الدم الذي يعكس تحسن قوة عضلة القلب، واقتصر التحسن على جزء فقط من المرضى.

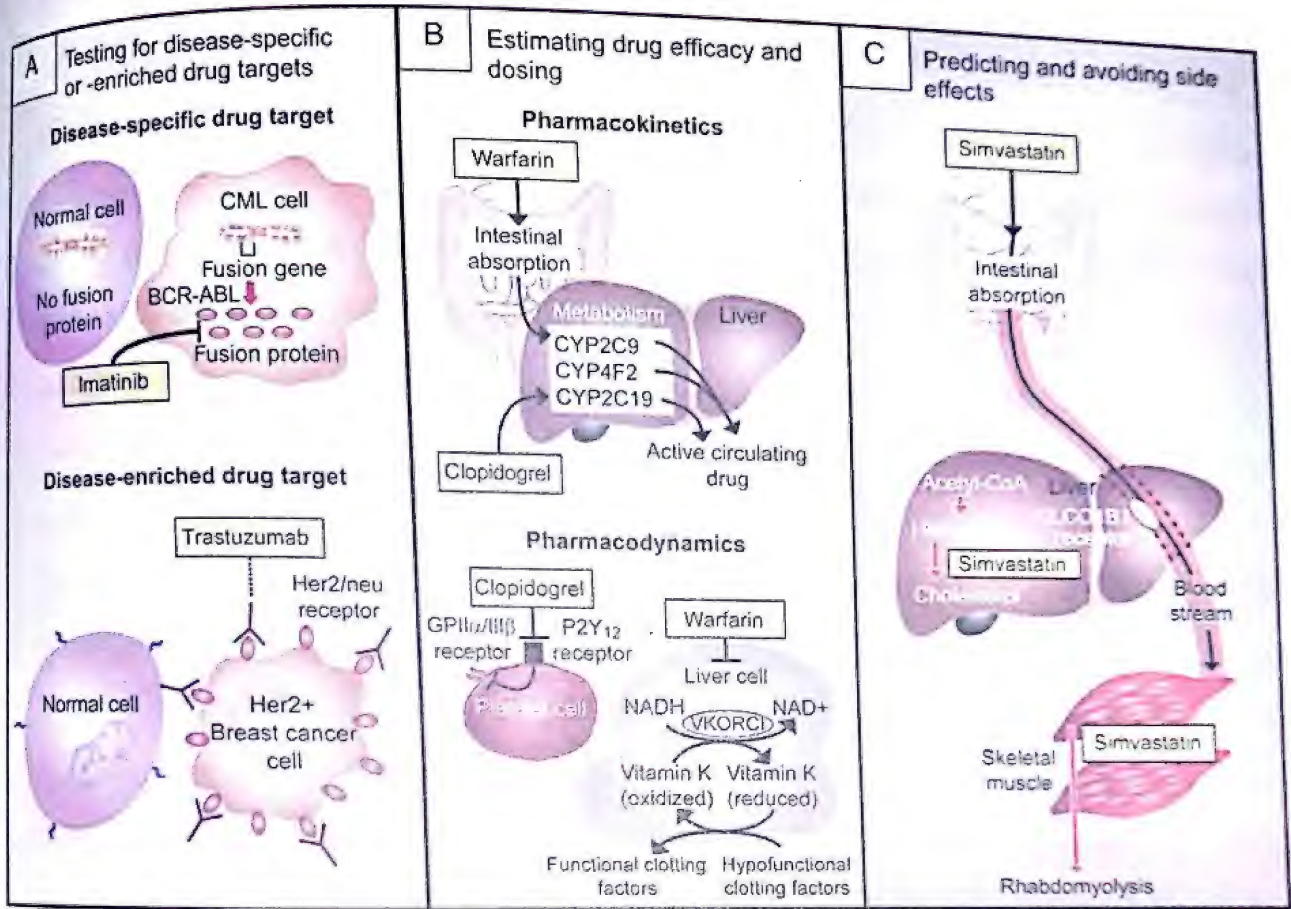
أجريت لاحقاً دراسة معمقة للمرضى إذ اكتشف أن الأليل مستقبل بيتا 1 يكون بشكلين اثنين؛ يرمز الأول الحمض الأميني الأرجينين Arg في الموقع 389 من البنية الأولية للبروتين، بينما يرمز الثاني الحمض الأميني الغليسين Gly في نفس الموقع. ووجد أن 50% من جمهرة الأفراد التي أدرجت في الدراسة كانت متماثلة الزيغوت للأليل Arg بينما كان 20% منها متماثل الزيغوت للأليل Gly، والباقي كانت متخالفة الزيغوت. وحينئذ أجريت دراسة أخرى اختبرت فيها أليلات جميع المرضى الذين أدرجوا في الدراسة الأولية للفعالية الدوائية لبوسيندولول وتبين أن الدواء كان فعالاً بصورة متميزة لدى المرضى متماثلي الزيغوت للأليل Arg بينما لم تكتشف فعالية تذكر لمتماثلي الزيغوت للأليل Gly أو عند متخالفي الزيغوت. وقد أقر استخدام الدواء لاحقاً فقط لدى المرضى متماثلي الزيغوت، وهم يمثلون كما ذكر سابقاً 50% من جمهرة المرضى. وهكذا، يخضع المرضى لتحري نمط الأليلي جين مستقبل بيتا 1 الأدرنرجي والتأكد من تماثل الزيغوت للأليلي Arg لديهم قبل البدء بالعلاج.

3.2.3.13 سرطان الثدي Breast Cancer

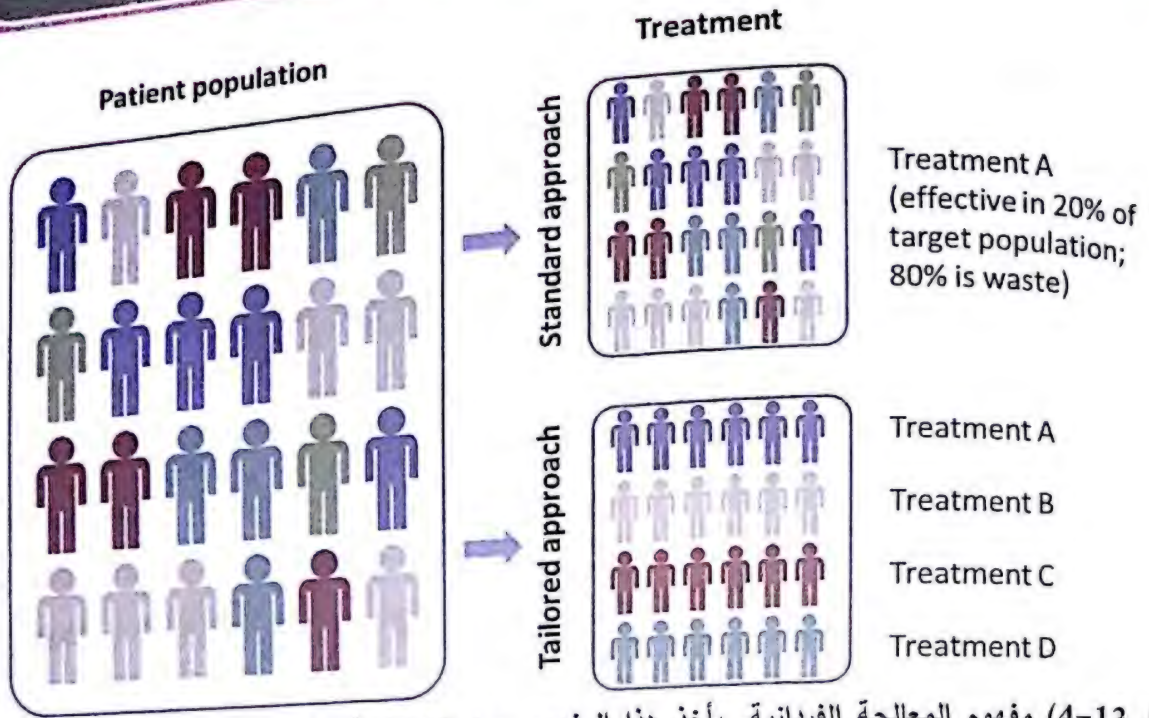
يحقّق سرطان الثدي المرتبة الأولى في الانتشار لدى الإناث بالمقارنة مع أنواع السرطانات الأخرى التي تصيبهن، مؤدياً إلى نسبة عالية من الوفيات كل عام حول العالم. وتكون الخلايا السرطانية للثدي متغايرة بشكل ملحوظ من إذ وجود أو غياب بعض مستقبلاتها السطحية مما ينعكس بشكل مباشر على الاستجابة للمعالجة التي تتلقاها مريضات هذا النوع من السرطان. يستجيب جزء من مريضات سرطان الثدي للمعالجة الهرمونية بدواء التاموكسيفين Tamoxifen، الذي يتنافس مع هرمون الإستروجين على الارتباط بمستقبلات هذا الأخير على الخلايا السرطانية للثدي ويمنع بذلك تأثير الإستروجين المحرّض لانقسام الخلايا السرطانية. إلا أن الخلايا السرطانية لدى نحو 60% من مريضات سرطان الثدي تكون سلبية لمستقبل الإستروجين Estrogen-Receptor Negative أو ER⁻، أي لا تعبّر الخلايا عن هذا المستقبل مما يحدّ من فعالية المعالجة بالتاموكسيفين لديهن. في المقابل، تعبّر الخلايا لدى 30% من مريضات سرطان الثدي بشكل مرتفع عن مستقبل آخر هو مستقبل عامل النمو البشري البشري Human Epidermal Growth Factor 2 أو HER-2، مما يمكن من علاج المريضات من هذا النوع بأضداد تستهدف مستقبل عامل النمو وتثبط قدرة الخلايا السرطانية على التكاثر. يدعى الدواء المكوّن من الأضداد بالهرسبتين Herceptin أو Transtuzumab وقد أدت المعالجة به إلى تحسّن كبير في علاج مريضات السرطان وخاصة اللواتي يكون لدى خلايا هن تعبير ضعيف عن مستقبلات الإستروجين وتعبير مرتفع عن مستقبلات HER-2 مما أدى إلى تطوير اختبار لمقايسة مستوى التعبير عن كل من المستقبلين ER و HER-2 في خلايا سرطان الثدي عند التشخيص وقبل البدء بالمعالجة من أجل تحديد نمط المعالجة الأمثل الذي يربط بالحد الأقصى تكاثر الخلايا السرطانية.

وبين (الشكل 13-3) بعض الأمثلة السابقة إضافة إلى عدة أمثلة أخرى لأدوية يمكن من خلال معرفة التكوين الوراثي لإنزيماتها المستقلية أو لمستقبلاتها توقع الفعالية الدوائية وتجنّب التأثيرات الضائرة إضافة لاستهداف نوعي بالدواء لبعض الخلايا دون غيرها من خلال تغاير التعبير الجيني عن المستقبل البروتيني للدواء في الخلايا المستهدفة.

وهكذا، ومن كلّ ما سبق، نرى أن بالإمكان توقع مدى الاستجابة العلاجية المتغايرة للدواء عند المرضى المختلفين في تكوين إحدى جيناتهم، و حيث يمكن فرز المرضى بحسب تكوينهم الجيني إلى مجموعات عدّة تستجيب فيها كل جمهرة من المرضى للمعالجة بصورة مثالية لأدوية مختلفة فعالة لديهم (الشكل 13-4)، بدلاً من تقديم أحد الأدوية الذي يمكن ألا تتجاوز فعاليته لدى المرضى نسبة 20% فقط. يُعرف مفهوم العلاج هذا بالمعالجة الفردانية Personalized Therapy للمرضى، التي تستهدف كل جمهرة من المرضى بحسب التكوين الجيني لديهم، وبحيث تمكن زيادة الفعالية العلاجية لديهم لتصل إلى المستوى المطلوب.



(الشكل 3-13) الآليات الثلاث المستهدفة لتحسين الاستجابة الدوائية. (A) اختبار الأهداف النوعية أو المعنوية للأدوية: ونجد هنا مثالين الأول يتعلق بدواء Imatinib، وهو مثبط لفعالية التيروسين كيناز الذي يمتلكها الإنزيم مستقبل الدواء الناتج عن انصهار جينتي *BCR-ABL* الذي يحصل نتيجة إزفاء صبغي فيلادلفيا فقط في الخلايا السرطانية بينما لا يوجد مثل هذا المستقبل في الخلايا السليمة. والمثال الآخر هو لدواء الهرسيبتين أو Trastuzumab الذي يستهدف مستقبل Her2 الذي يزيد التعبير عنه (يُغنى) في خلايا سرطان الثدي بشكل واضح نسبة لخلايا الثدي السليمة. (B) تقدير فعالية الدواء والجرعة المناسبة له: ونجد هنا مثلاً عن تقدير الحركية الدوائية لدوائين مضادين للتخثر هما Warfarin و Clopidogrel، إذ يمكن تقدير الجرعة بحسب أشكال الإنزيمات المستقلة لكلا الدوائين في جسم المريض، ومثالاً عن ديناميكية الدواء لكلا الدوائين عبر معرفة أشكال مستقبلتي (إنزيم VKORC1 مستقبل Warfarin) و (المستقبلين *GPIIb/IIIa* و *P2Y12* لدواء Clopidogrel). (C) توقع وتجنب التأثيرات الضارة للأدوية: ومثاله دواء Simvastatin ذو الفعالية الخافضة للكوليسترول في مصل المرضى، إذ يمكن أن يؤدي هذا الدواء إلى اعتلالات عضلية إن لم يتم النقاط السمفاستاتين في الكبد بصورة جيدة نتيجة تعدد شكلي لمستقبله في الكبد *SLCO1B1* وزيادة تركيزه في العضلات.



(الشكل 4-13) مفهوم المعالجة الفردانية. يأخذ هذا المفهوم بعين الاعتبار أن المرضى متغايرين فعلاً في تكوينهم الجيني، الذي ترمز إليه الألوان المختلفة للمرضى إلى يسار الشكل. فإذا ما تمت معالجة جميع المرضى بنفس الدواء، أو Treatment A، يمكن ألا تتجاوز الفعالية العلاجية نسبة 20%، بينما تكون ضعيفة أو حتى معدومة لدى الـ 80% من بقية المرضى (إلى يمين وأعلى الشكل). أما لدى فرز المرضى، كلّ بحسب تكوينه الجيني أو "لونه"، يمكن بذلك تقديم معالجات مختلفة A أو B أو C أو D لتحقيق الفعالية العلاجية المثلى لدى جميع المرضى.

4.13. الطب المجيني الفردي (الشخصاني)

Personalized Genomic Medicine

انحصر تركيزنا في الأمثلة المذكورة آنفاً على التغيرات التي تطال جيناً واحدة فقط وتأثيراتها في المعالجة الدوائية. إلا أنه في الحقيقة، تكون معظم الاستجابات الدوائية ناتجة عن صفات معقدة ومتداخلة **Complex Traits**. يمكن لدواء أن يظهر تأثيره بشكل مباشر أو من خلال مُستقلّبات أكثر فعالية، يمكن لكل منها أن يُستقلب عبر سبل مختلفة ويُظهر تأثيره في الكثير من الأهداف. وهكذا، يمكن لتغيرات جينية في أكثر من موقع جيني أن تتأثر معاً، بشكل متوازي **Synergistically** أو متعاكس **Antagonistically**، الأمر الذي ينتج عنه إما زيادة في سمية الدواء وإما انخفاض في فعاليته. وهكذا، يمثل تحديد مُرتسَم مجيني دوائي **Pharmacogenomic Profile**، يأخذ بعين الاعتبار التأثير الكلي للتغيرات الجينية المتعددة، وأيضاً العوامل البيئية على الاستجابة للأدوية بما في ذلك الأدوية الأخرى المعطاة بشكل متزامن، ضرورة ملحة قبل أن نحدّد بدقة المعايير التي نقودنا للمعالجة الدوائية المثالية للمرضى. وإذا ما حدّد المُرتسَم المجيني الدوائي، عندها يمكن استخدامه لتوقع الفعالية والتأثيرات الضائرة للدواء لدى فرد ما قبل أن يقدم الدواء له، وأيضاً أن نحدد المرضى الذين يجب أن يتلقوا معالجة أكثر

صرامة ونراقبهم للتأكد من تحقيقهم للمستويات العلاجية المناسبة. ويكون الهدف النهائي أن يحقق المرضى الدواء الأفضل بالجرعة الأمثل ويتجنبوا التأثيرات الضائرة الخطرة. ولذلك، فمن المتوقع أن يأخذ علم الوراثة المجهني الدوائي Pharmacogenomics أهمية أكبر في صنع القرار العلاجي الأمثل في السنوات القادمة وتلقي المرضى لدواء فردي Personalized، يعتمد على دراسة كل مريض على حدة وتقدير نوع وكَم الدواء الأمثل له.

في الواقع، إن مبدأ الطب الفردي ليس جديداً. فقد أشار إلى ذلك العالم الإغريقي أبوقراط Hippocrates في القرن الرابع قبل الميلاد بقوله: "إن معرفة المريض الذي يُصاب بالمرض هي أهم من معرفة المرض الذي يصيب المريض". وكانت المحطة التالية مع الطبيب الإنكليزي Archibald Garrod في بداية القرن العشرين الذي اقترح مبدأ الفردانية الكيميائية، إذ ينسب له القول إن "العوامل التي تسيطر على استعدادنا المسبق ومناعتنا تجاه الأمراض هي موروثية ضمن بنيتنا الكيميائية نفسها، ضمن المجموعات الجزيئية التي تكوّن الصبغيات".

إن هدف الطب المجهني الفردي Personalized Genomic Medicine هو استخدام المعرفة حول جميع التغيرات الجينية للفرد وثيقة الصلة بالدواء بهدف الحفاظ على صحته أو معالجة مرضه كجزء من الرعاية الصحية الروتينية. ونستطيع اليوم أن نقدر النمط الجيني عند جميع المواقع الجينية باستخدام تقانة سلسلة كامل المجين Whole Genome Sequencing. في الواقع، تخطط بعض الدول للقيام بسلسلة مجانيين جميع أفراد مجتمعاتها خلال السنوات القليلة القادمة وحفظ تلك المعلومات للاستفادة منها بالطب الفردي.

لكن في المقابل، تواجه تطبيقات الطب المجهني الفردي الكثير من التحديات:

- الكلفة العالية جداً لسلسلة المجين لدى جميع المرضى، مع أن هذه الكلفة آخذة بالانخفاض نتيجة التطور التكنولوجي السريع.
- تفسير نتائج التحاليل المجهنية، التي تحتاج إلى وقت طويل وإلى خبراء في علم يدعى المعلوماتية الحيوية Bioinformatics، ويختص بمقارنة تسلسلات كامل المجين (أكثر من 3 مليارات نوكلويد) بين أفراد المجتمع وفرز الفروق المهمة المؤثرة في النمط الظاهري للأفراد عن تلك غير المؤثرة.
- حتى لو وجدت تغيرات جينية تتوافق مع شذوذات مرضية أو تباينات في الاستجابة للأدوية، فإن نسبة انتفاذ Penetrance النمط الظاهري الناتج عن تلك التغيرات إلى أفراد المجتمع قد تكون قليلة.
- إن الطب المجهني الفردي هو فقط أحد مكونات ما يدعى بالطب الدقيق Precision Medicine، الذي يتطلب دمج البيانات الجينية مع معلومات فيزيولوجية وكيميائية حيوية وبيئية أخرى.

وأخيراً، يبقى الهدف النهائي لشفاء الأمراض هو التوجّه إلى تشخيص ووقاية وعلاج أكثر دقة. وقد بدأ ذلك في السنوات القليلة الماضية مع إدراج مفهوم الوراثة الدوائية لكن لا يزال هنالك الكثير من العمل أمامنا قبل أن يصبح الطب الفردي جزءاً لا يتجزأ من الطب المطبق حالياً.

الفصل الرابع عشر

علم الوراثة السرطانية

Cancer Genetics

المحتويات Contents

- | | |
|---|---|
| 1.14. ضوابط الدورة الخلوية | 10.10.14. سرطان الموتة (البروستاتة) |
| 2.14. الجينات الكابتة للورم | 11.10.14. سرطانة الخلية الكلوية |
| 3.14. الجينات الورمية | 12.10.14. سرطان الجلد |
| 4.14. جينات إصلاح الدنا | 13.10.14. سرطان الخصية |
| 5.14. جينات أخرى | 14.10.14. سرطان الدرق |
| 6.14. السرطان الموروث حيال الفرادي | 15.10.14. داء السلائل الغدومي العائلي (داء السلائل القولونية، متلازمة جاردنر) |
| 7.14. فرضية Knudson أو نموذج التسرطن بالضريرتين | 16.10.14. الميلانوم الخبيث اللانمطي العائلي |
| 8.14. عدم استقرار المجين | 17.10.14. متلازمة فانكوني |
| 9.14. الأهمية السريرية للدراسة الجينية للسرطان | 18.10.14. سرطان القولون الوراثي غير السلالي |
| 10.14. الاستئصال الوراثي في السرطان | (متضمناً متلازمات لينش I & II) |
| 1.10.14. أورام الدماغ | 19.10.14. النمط 1 من سرطان الثدي الوراثي |
| 2.10.14. سرطان الثدي | 20.10.14. النمط 2 من سرطان الثدي الوراثي |
| 3.10.14. سرطان عنق الرحم | 21.10.14. متلازمة سرطانة الخلية القاعدية |
| 4.10.14. سرطان المعدة والمريء | الوحمانية |
| 5.10.14. سرطان القولون والمستقيم | 22.10.14. الورم الأرومي العصبي |
| 6.10.14. ابيضاض الدم | 23.10.14. الورم الشبكي الأرومي |
| 7.10.14. اللمفومة (الورم اللمفي) | 24.10.14. ورم ويلمز (الورم الأرومي الكلوي) |
| 8.10.14. الساركومة العظمية | 25.10.14. جفاف الجلد الصباغي |
| 9.10.14. سرطان المبيض | |

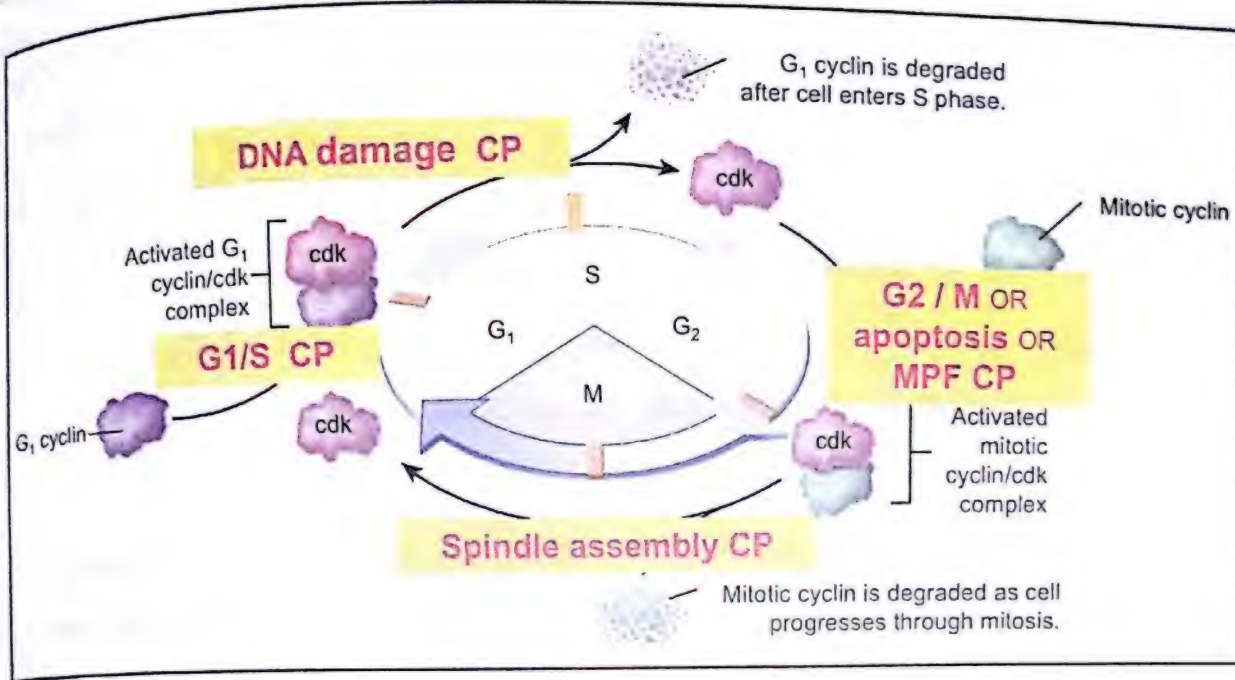
السرطان هو مجموعة من الاضطرابات تتشارك فيما بينها بنمو خلوي غير مضبوط، وتتجم عن التبدلات في الجينات التي تنظم الدورة الخلوية خلال الانقسام الفتيلي فتتقسم باستمرار مشكلة الورم الذي قد يكون حميداً لا ينتشر أو خبيثاً ينتشر إلى الأنسجة والأعضاء الأخرى من الجسم تسمى النقائل.

خلافاً لأنماط الاضطرابات الوراثية الأخرى، ومن أجل معظم السرطانات، لا تكون الطفرات الوراثية المسببة موروثة. وتنشأ تلك الطفرات في الخلايا الجسمية أثناء سن المراهقة نتيجة التعرض لمطفرات بيئية. وتشارك عادة طفرات عديدة في إحداث التسرطن مما يؤدي إلى آثار تراكمية تزيد في حدة المرض. وتكون الطفرة الأولى في 5-10% من السرطانات الشائعة (كسرطان الثدي والقولون) ونسبة أعلى من ذلك في بعض السرطانات النادرة موروثة، وبذلك تزداد نسبة خطورة حدوث السرطانات عند الأقارب. تشمل هذه الطفرات عادة (الموروثة والمكتسبة) ثلاثة أنماط من الجينات: الكاظمات الورمية Tumor repressors والجينات الورمية Oncogenes والجينات المعنية بآليات إصلاح الدنا، ويعنى النمطان الأول والثاني عادة بالسيطرة على التكاثر والنمو الخلويين، وإن تخريب آلية هذه السيطرة هو السمة الدالة على نشوء السرطان.

1.14. ضوابط الدورة الخلوية Cell Cycle:

يعتمد توقيت ومعدل وعدد الانقسامات الخلوية على:

1. عوامل النمو ومستقبلاتها والهرمونات.
2. جزيئات التنبؤ signaling.
3. عوامل الانتساخ النووية nuclear transcription factors.
4. نقاط التحقق checkpoints الدورة الخلوية وهي بروتينات تنظيمية تضمن أن الأحداث التفتلية تحدث في التتالي الصحيح وهي منتجات جينية تخصصية (الشكل 1-14).
5. السيكلين والكيناز المعتمد على السيكلين ومثبطات السيكلين.
6. طول القسيمات الطرفية.
7. التماس الفيزيائي.

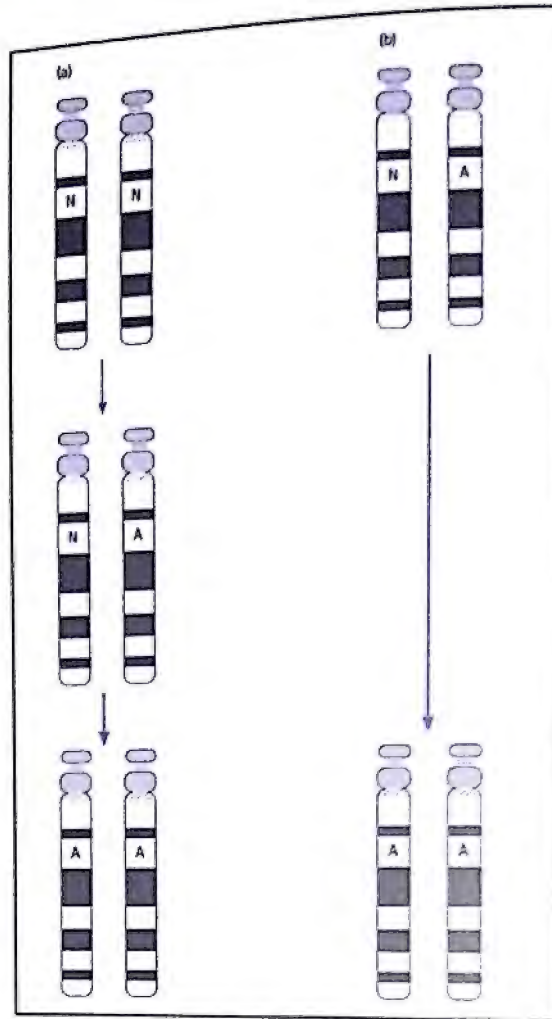


(الشكل 14-1): نقاط تحقق checkpoints الدورة الخلوية.

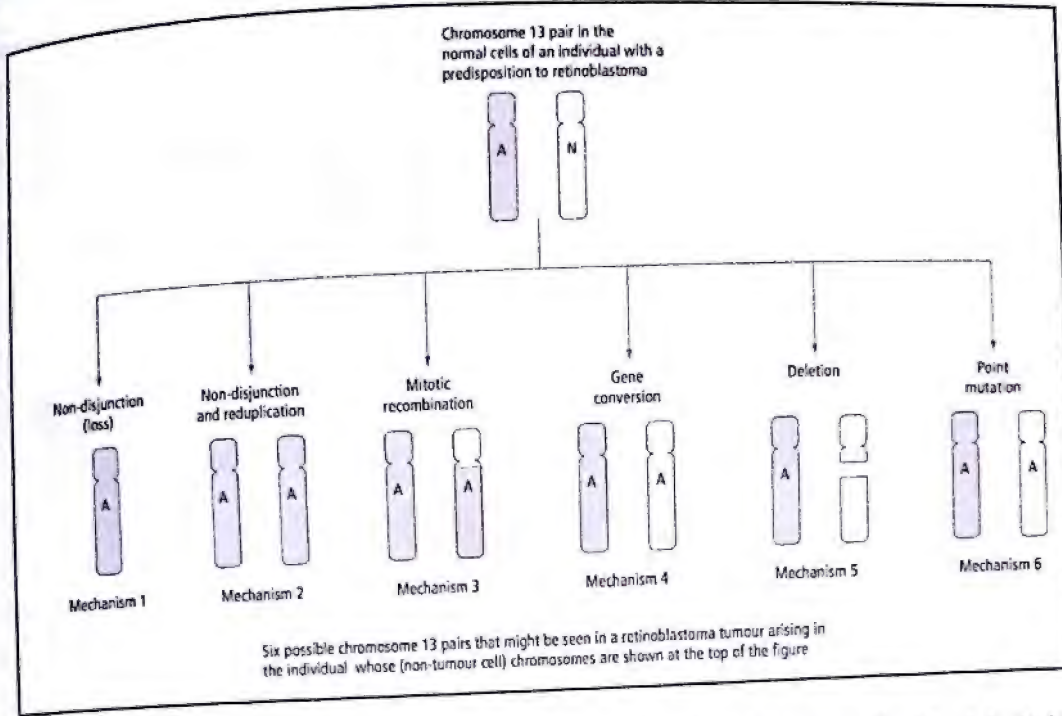
2.14. الجينات الكابتة للورم Tumor Suppressor Genes:

وهي التي تمنع بشكل طبيعي التكاثر الخلوي غير المنضبط من خلال مشاركتها في السبل المنظمة للدورة الخلوية وقد تعرض الاستماتة Apoptosis، اكتشفت هذه الجينات أول مرة نتيجة دراسات أجريت على سرطانات نادرة كالورم الأرومي الشبكي Retinoblastoma، وهو ورم عيني أكثر شيوعاً في فترة الطفولة، وتصاب العينان في 20-30% من الحالات. وإن جميع الحالات ثنائية الجانب و15% من الحالات الأحادية الجانب تكون مورثة كخلة سائدة جسمية. تتوضع الجين المسؤولة على الذراع الطويل للصبغي رقم 13، ويغيب الناتج البروتيني الوظيفي لهذا الجين في النسيج الورمية. ويحدث عيب في الأليل غير الطافر ضمن الخلية الشبكية حتى تظهر الخلة.

ومن الحالات غير الموروثة لهذا الورم، تحت طفرتان منفصلتان من جديد *de novo* في كلا الصبغيين المتناظرين رقم (13) في الخلية الشبكية (الشكل 14-2)، وبذلك تكون الإصابة ثنائية الجانب بعيدة الاحتمال، ويكون العمر في مثل هذه الحالات متقدماً. تكون الطفرة الأولى في الورم الأرومي الشبكي الشائع أو غير الموروث نقطية عادة (من نمط الهرائية Non-sense، أو انزياح الإطار Frameshift، أو خطأ تضفير Splicing error مما يؤدي إلى عدم إنتاج بروتيني أو إنتاج بروتين معيب. أما في الطفرة الثانية فيحدث فقدان كلي أو جزئي للصبغي رقم (13) بسبب عدم انفصال صبغي، أو يحدث خبن صبغي جزئي له (الشكل 14-3).



(الشكل 14-2): يظهر نسخ من الصبغي 13 إما مع الجين السوي (N) أو مع الجين الشاذ (A) للورم الأرومي الشبكي الموروث.



(الشكل 14-3): آليات فقد الأليل الثاني للورم الأرومي الشبكي (الجين السوي N والجين الشاذ A).

وتؤدي الطفرة الثانية غالباً (60% من الحالات) إلى فقدانات متنوعة للألائل الموجودة على الصبغي (13) بما في ذلك الموضع الجيني المسؤول عن الورم الأرومي الشبكي. ويمكن كشف ذلك بتحليل الدنا الذي يظهر فقداناً في تخالفية الألائل Loss of Heterozygosity (LOH) للمسابر داخل منطقة الخبن.

درست أنماط جينية عديدة في حالات فقدان تخالفية الألائل للصبغي (13) بغية تحديد مواضع جينية كابثة للورم أخرى. وحدد ما ينوف على العشرين موضعاً جينياً، وتُسل الكثير منها بما في ذلك جينات الورم الأرومي الشبكي. والـ (P53) وجينات داء السلائل القولونية الغدومي Adenomatous Polyposis Coli. ويبدو أن الطفرات الحادثة على الصبغي 17-(p17) للموضع الجيني لجين الـ p53 هو التغير الجيني الأكثر شيوعاً في السرطانات. ففي سرطان القولون على سبيل المثال، يظهر 75-80% من الأورام فقداناً في تخالفية الألائل من أجل (P53) والمواضع الجينية المجاورة، ويلاحظ ذلك في أورام أخرى بما في ذلك سرطان الرئة وسرطان الثدي وسرطانات الدماغ وسرطان الكبد والابيضاض النقوي المزمن Chronic Myeloid Leukemia.

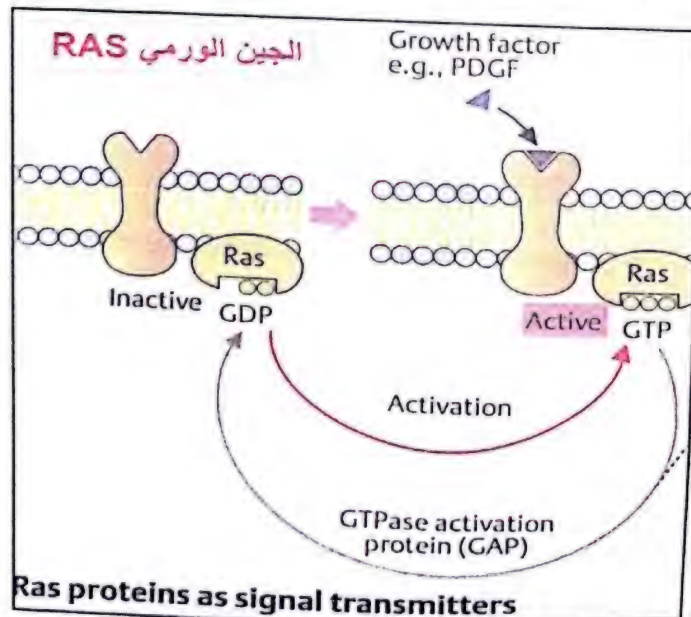
وتكون طفرة (p53) الأولى في سرطان القولون نقطية ناتجة عادة عن قلب من C إلى T في ثنائي النوكليوتيد CpG (ولاسيما في المواضع 175، 248، 273، 283). ويختلف نمط الطفرة والمواضع في أورام أخرى. فعلى سبيل المثال، تنتج الطفرة في سرطان الكبد المحرض بالـ Aflatoxin عن قلب من

GpC إلى TpC في الموضع 249 في معظم الحالات، ويصادف في سرطان الرئة تبدل من CpN إلى ApN في طفرات (p53).

وتستطيع طفرتان معطلتان في موضع جين الورم الأرومي الشبكي إحداث التسرطن. ويتوقع اشتراك عدة مواضع جينية بمراحل عديدة من التبدل في إظهار الغالبية العظمى من الأورام. ويفهم هذا التطور المتعدد المراحل جيداً في سرطان القولون، إذ تشترك ثلاثة مواضع جينية كابثة للورم على الأقل وموضع جين ورمية على الأقل في ذلك.

3.14. الجينات الورمية Oncogenes:

وهي التي تنشط بشكل طبيعي الانقسام الخلوي، ويوجد أكثر من مئة جين ورمي تسبب السرطان إذا تم تفعيلها بشكل غير ملائم، اكتشفت الجينات الورمية أول مرة عند التحليل الجزيئي للفيروسات القهقرية Retroviruses الورمية التي تسبب سرطانات في الفئران والقطط والقرود. على سبيل المثال، ينشأ الجين الورمي RAS (من فيروس روس الساركومي الطيري Rous Avian Sarcoma Virus) عند الدجاج ويسبب تشكل ورم ساركومي فيه. وينشأ كل جين ورمي فيروسي (V-onc) في الواقع من جين في ثوي طبيعي (الذي لا يكون مسرطناً في الحالة الطبيعية) بوساطة حدوث تأشيب بينه وبين المجين الفيروسي السلفي (الشكل 4-14). وقد تم عزل وتخطيط أكثر من مئة نسخة من الجينات الورمية الخلوية الطبيعية حتى الآن وتعيين مواضعها على خريطة الصبغيات البشرية (الجينات الورمية C-onc). ويمكن تنشيط هذه الجينات الورمية البشرية لتحداث سرطانات نتيجة لطفرات نقطية أو لإعادة ترتيب صبغي أو بشكل ثانوي لتضخيم جيني Gene Amplification.

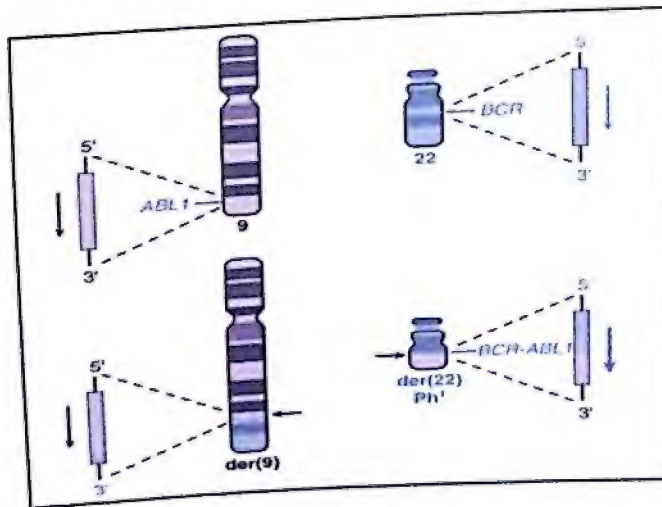


(الشكل 4-14): يوضح الجين الورمي RAS.

وضحت مقارنة سلسلة الدنا للجينات الورمية C-Oncogenes في النسيج الورمية مع تلك الموجودة في نسيج أخرى جسمية إن الطفرات النقطية النوعية تحدث أنماطاً ورمية مختلفة. على سبيل المثال، وفي الجين *HRAS*، يتوضع الحمض الأميني الغلايسين في الموضع 12، ولكن توجد في النسيج الورمي لبعض المرضى المصابين بسرطان المثانة وسرطان الرئة والميلانوم طفرة نقطية (من GGC إلى GTC) تستبدل بالفالين الغلايسين في الموضع 12. هذه الطفرة لا تورث، بل تنشأ كطفرة في الخلايا الجسدية المنشئة للسرطان. وتم التعرف على طفرات نقطية نوعية أخرى في مواضع حاسمة ضمن جين *HRAS* (مثلاً: الموضع 13، 119، 61) وغيرها من الجينات الورمية.

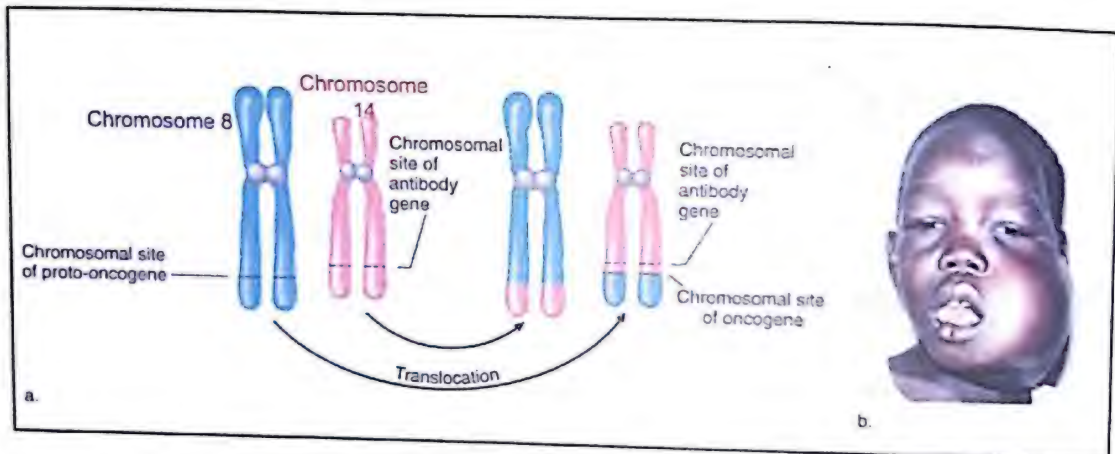
ويمكن إظهار وجود جين ورمي نشيط بكشف وإما قدرات أو مقدرة خلاصات DNA الورم على نقل الأثر إلى سلالة خلوية حساسة له وإنتاج نساقل خبيثة عند القوارض. ويمكن تنشيط الجينات الورمية البشرية أيضاً نتيجة لإعادة ترتيب الصبغيات. ومثال ذلك في ابيضاض الدم النقوي الحاد (CML) ووجود صبغي فيلادلفيا Philadelphia Chromosome. تبدي الغالبية العظمى من المرضى المصابين هذا الصبغي (صبغي أصغر من الصبغي رقم 22 الطبيعي) ضمن خلايا نقي العظم الخبيثة (ولكن ليس في النسيج الجسدية غير المصابة). وهو في الواقع إفزاء صبغي متبادل بين الصبغي رقم 9 (يكون عادة أبوي المصدر) والصبغي رقم 22 (يكون عادة أمومي المصدر) (الشكل 14-5).

نتيجة لذلك ينقل الجين الورمي *ABL* من موضعه الطبيعي في (9q34) إلى (22q11) إذ تترتب من جديد ضمن متتالية نوعية تدعى منطقة عنقود نقط الانكسار Breakpoint Cluster region (BCR). إذ يُنتج الجين الهجين بروتيناً جديداً في خلايا CML يعتقد أنه المسؤول عن التحول إلى الخبثة (الشكل 14-5).



(الشكل 14-5): صبغي فيلادلفيا، ناتج عن إفزاء متبادل بين الصبغي 9 و22. [t(9;22)(q34; q11)]

ونجد مثلاً مهماً آخر في لمفومة بوركيت Burkett's Lymphoma. وهي خباثة الخلايا البائية (B-cells) التي تتميز بإزفاءات مواضع صبغية نوعية تشمل 8q24k مع إما 2p11، 14q32 أو 22q11 ينتقل الجين الورمي *MYC* الذي يتوضع بصورة طبيعية في 8q24 إلى الموضع 14q32 في معظم الحالات، ويبدو أن الجين *MYC* يتفعل بمعززات Enhancers جين سلسلة الغلوبولين المناعي الثقيلة المتوضعة عند 14q32 (الشكل 14-6). وفي الإزفاءات الأخرى يُبرهن أن أجزاءً من جينات السلسلة الخفيفة (كأباً في الموضع 2p11 ولأمبداً في الموضع 22q11) تُنقل لتفعيل موضع الجين *MYC* في 8q24. ويسبب إعادة ترتيب جين سلسلة الاستقبال الفـا للخلايا التائية بنقلها من 14q11 إلى موضع جينات السلسلة الثقيلة للغلوبولين المناعي في 14q32 بواسطة عملية الانقلاب قرب القسم المركزي حدوث لمفومات الخلايا التائية T-Cells.



(الشكل 14-6): يوضح الجين الورمي *MYC* ولمفوما بوركيت.

توضح هذه الدراسات أهمية التعرف على إعادة الترتيبات الصبغية الجديدة النوعية في الخلايا الورمية. بيد أنه، من أجل الكثير من الأورام ذات الدلالات الخلوية الوراثية النوعية، لم تحدد جينات ورمية أو كابتة للورم حتى الآن في المواضع الصبغية المخصصة، وتبقى آلية حدوث المرض غامضة. علاوة على ذلك، وكما هي الحال في فقدان الألائل الذي يُكشف بتحليل الدنا يمكن أن تحدث شذوذات صبغية في أورام مختلفة الأنماط، ولا يزال سبب ذلك مجهولاً.

مميزات الجينات الورمية:

- طفراتها من النمط السائد Dominant
- تتفعل بطفرات من نمط كسب الوظيفة Gain of Function

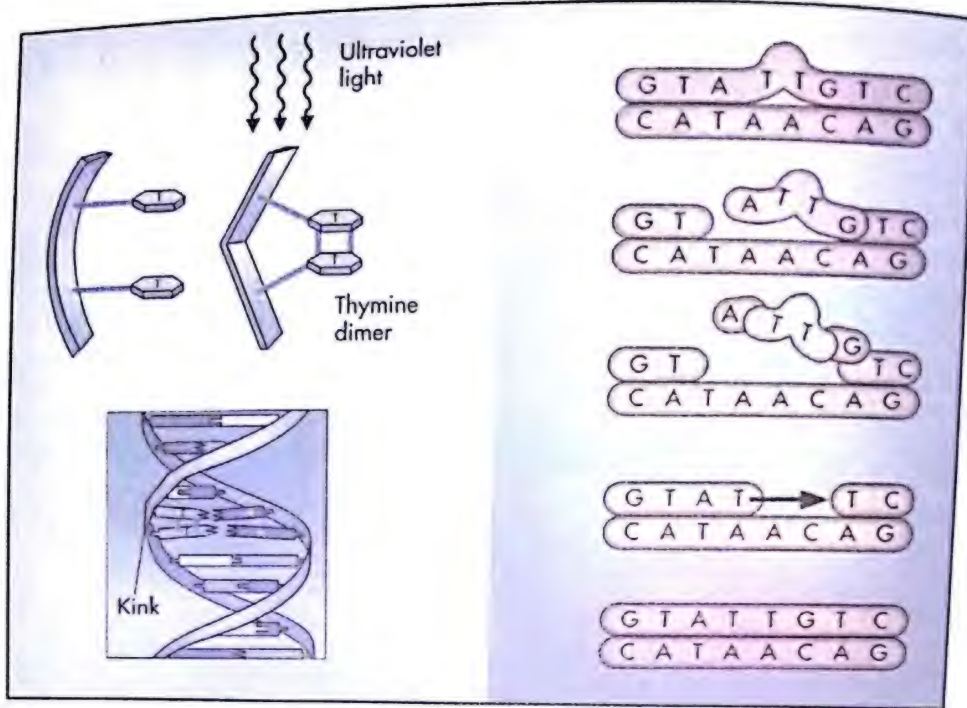
- فبسبب الطفرة يصبح بروتين الجين الورمي ثابت النشاط مما يسبب عدم توقف التكاثر الخلوي ونقول عن هذه الخلية إنها استحالته Transformed.
- معظم طفرات الجينات الورمية فرادية Sporadic وتحصل في الخلايا الجسدية ويشاهد القليل من طفراتها في خلايا الخط الإنشائي (فهي غير وروثة، أي لا تورث).

طرائق تفعيل (طليعة) الجينات الورمية:

- التضخيم Amplification ومثالها تضخيم جين *N-MYC* الذي يسبب الورم الأرومي العصبي Neuroblastoma.
- طفرة نقطية Point Mutation ومثالها جين *HRAS* الذي يسبب سرطان المثانة.
- إعادة ترتيب صبغية Rearrangement تخلق جيناً هجيناً ومثالها جين *ABL* الذي يسبب اللابيضاض النقوي المزمن.
- إزفاء جين إلى ناحية كروماتين ينتسخ بنشاط، ومثاله جين *MYC* الذي يسبب ورم بوركيت مثل $t(8;14)(q24;q32)$.

4.14. جينات إصلاح الدنا DNA-Repair Genes:

توجد آليات خاصة ترمم الـ (DNA) وتصحح الأذيات المتكونة فيه الناجمة عن عمل مطفرات بيئية وعن التوضع الخاطئ للأسس الأزوتية أثناء التنسخ Replication. وتؤدي العيوب الموجودة في أي من النظامين إلى تزايد نسبة حدوث السرطان، في حين تؤدي المطفرات البيئية إلى اضطرابات متتحة جسمية نادرة عموماً (مثل: جفاف الجلد الصباغي Xeroderma Pigmentosa)، فإن الخطأ في إضافة الأسس أثناء التنسخ شائع، ويورث كخلل جسدية سائدة. وحُدد في المجموعة الثانية أربعة مواضع جينية مسؤولة (*MSH2, MLH1, PMS1, PMS2*)، وتتفاعل منتجات هذه الجينات بصورة طبيعية فيما بينها مؤثرة في سير عملية الإصلاح. مع فقدان الأليل الثاني الطبيعي الجسدي تصبح الخلية عرضة لتراكم الطفرات الجينية، وعاقبة ذلك إن التكرارات السائلة الصغيرة Microsatellite Repeats عند الموضع المتعدد الأشكال يمكن أن تختلف عن الأنسجة الطبيعية المحيطة (وتسمى أيضاً REP+ أي إيجابية خطر التنسخ Error Positive Replication) (الشكل 14-7).



(الشكل 14-7): جينات إصلاح الدنا، بنجم جفاف الجلد الصبافي عن اختلال إصلاح استئصال مثوية تيمين ويحدث فيه سرطان جلد.

5.14. جينات أخرى Other Genes:

على سبيل المثال، يزداد اختطار حدوث سرطان المثانة عند عمال أصبغة الأنيلين بطيئي الاستقلاب للإيزونيازيد Isoniazid.

وغالباً ما تزداد نسبة حدوث التبدلات الصبغية أثناء تطور السرطان، الأمر الذي يزيد في خبائثته. وترتبط هذه التبدلات غالباً بعملية تضخيم للجينات الورمية أو باشتراك جينات ورمية جديدة. يمكن أن يزداد عدد نسخ جين ورمي ما بحدوث تكرارات عديدة، غالباً ما تكون على شكل مناطق صبغية متجانسة التلون HSRs أو على شكل سلاسل من قطع رفيعة تدعى الدقائق المضاعفة Double Minutes (عناصر خارج صبغية مضاعفة صغيرة يعوزها القسم المركزي). ويمكن أن تحتوي هذه الدقائق المضاعفة جينات تملك أفضلية انتخابية من أجل الورم مثل أنزيم Dihydrofolate Reductase عند المرضى المعالجين كيميائياً بالـ Methotrexate وتميل هذه إلى الاختفاء حالما يرفع عنها الضغط الانتخابي، ما لم تضاف إلى صبغيات الخلايا على شكل HSRs (الشكل 14-8).



(الشكل 14-8): رسم لانتشار الصبغيات موضّح الدقائق المزدوجة (بعضها مشار إليه بالسهم).

6.14. السرطان الموروث حيال الفردي:

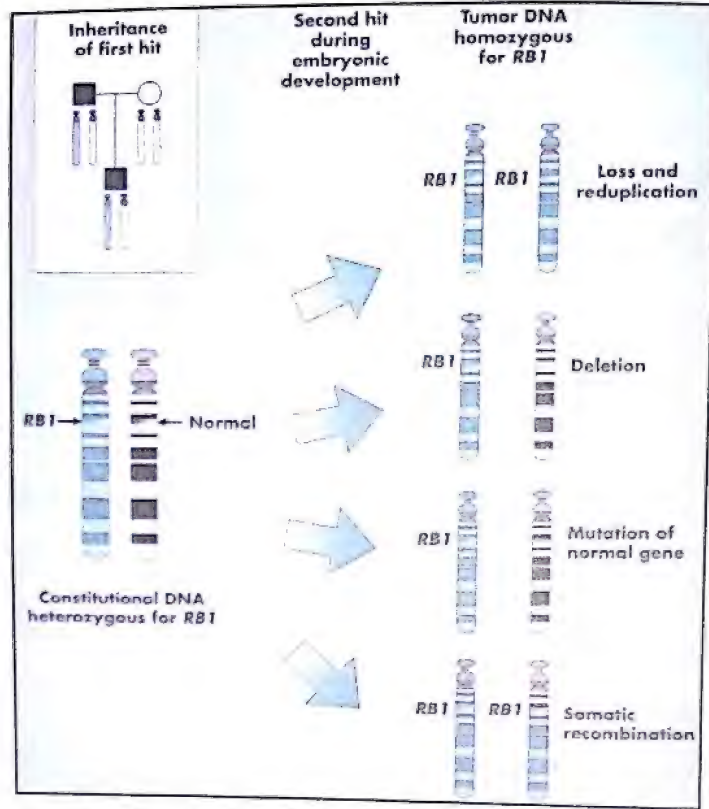
يجب التمييز بين الطفرة المسببة للسرطان الموجودة في كل خلايا الجسد بما فيها خلايا الخط الإنتاشي (طفرة بنوية Constitutional) وتكون منتقلة من الوالد المصاب وبين طفرة جسمية ثانية تحدث من جديد *de novo*. ويقدر أن 10% فقط من السرطانات تورث من الوالد المصاب. الذي يورث هو عادة الاستعداد للسرطان.

7.14. فرضية Knudson أو نموذج التسرطن بالضريرتين

:Two-Hit Model Carcinogenesis

في الشكل الموروث للورم يرث المصاب طفرة من والده المصاب كخطوة أولى، فتكون بنوية ومن النمط النقطي (هرائية أو انزياح الإطار أو خطأ تضفير) فتكون جميع خلايا الجسم مؤهلة لحدوث السرطان، ويحتاج هذا الفرد إلى طفرة جسمية ثانية غير نوعية تحدث إما بفقد الصبغي الطبيعي وإما تضاعف الطافر وإما طفرة نقطية فيه وإما خبن وإما تأشب جسدي Somatic Recombination.

نأخذ كمثال الورم الأرومي الشبكي Retinoblastoma، ويسمى الجين المسبب لهذا الورم *RB1* وموضعه في 13q (الشكل 14-9).



(الشكل 14-9): فرضية KNUDSON أو نموذج التسرطن بالضريرتين.

8.14. عدم استقرار المجين Genomic Instability:

هو مصطلح يشمل تقريباً كل الخلايا السرطانية وهو على مستويين: صبغي وجزيئي. وينجم عن عيوب في البروتينات المسؤولة عن انفصال الصبغي أثناء الانقسام الفتيلي (خلل في نقطة مراقبة المغزل)، أو عن عيوب في البروتينات المطلوبة من أجل الانقسام الخلوي المضبوط والدقيق، أو عن عيوب في البروتينات المسؤولة عن تصليح الدنا. ويكون سبب هذه العيوب طفرات فردية عادة أو موروثة في بعض الأحيان، فتسبب سرطانات موروثة.

9.14. الأهمية السريرية للدراسة الجينية للسرطان:

إن للدراسات الوراثية (صبغية وتحليل الدنا) أهمية كبيرة في تشخيص وتحديد إنذار عدد متزايد من الأورام. وقد درست ابيضاضات الدم أكثر من غيرها ومن الممكن استخلاص بعض النتائج العامة من ذلك.

أولاً: يبدوان الحدث الصبغي الأول هو الذي يحدد القاعدة الحيوية للمرض. فعلى سبيل المثال، يمكن أن يرتبط النمط (FAB TYPE 2) لابيضاض الدم النقوي الحاد AML بثلاثة تبدلات صبغية ورمية. يملك مرضى AML الذين لديهم الإزفاء $t(8:21)$ عادة أجسام AUER ضمن خلايا الابيضاض (المصابة)، ويستجيبون بسرعة للمعالجة مع هجوع طويل ويتميزون ببقيا طويلة نسبياً. وخلافاً لذلك، يبدي مرضى AML مع الإزفاء $t(9:22)$ (صبغي فيلادلفيا) إنذاراً ضعيفاً، كما يبدي المرضى ذوو الإزفاء $t(6:9)$ درجة متوسطة من النجاة.

ولوحظت الإزفاءات في نحو ثلث المرضى المصابين بابيضاض الدم النقوي الحاد، ولهؤلاء إنذار أضعف من أولئك الذين يملكون أنماطاً نووية طبيعية أو زيوغاً صبغية عددية، ومن بين التبدلات الصبغية يعطي الإزفاء $t(4;11)$ و $t(9;22)$ إنذاراً ضعيفاً لدرجة كبيرة. ويتميز ابيضاض الدم الثانوي بعد التعرض للمعالجة الكيميائية أو التشعيع أو المركبات السامة بوجود تبدلات تشمل الصبغي رقم -5 والصبغي رقم -7 والصبغي رقم -17 ورقم -12 ورقم -3، ويبدو أن للمرضى أحادي الصبغي Monosomic بالنسبة إلى الصبغي رقم -5 أو -7 الإنذار الأسوأ ضمن هذه المجموعة. ويملك معظم المرضى المصابين بابيضاض الدم النقوي المزمن CML الصبغي فيلادلفيا، ولكن 10% منهم لا يملكون هذا الصبغي. ويمكن أن يملك هؤلاء المرضى الآخرون إزفاء صبغياً خفياً من نمط فيلادلفيا (مزيج أو إزفاءات أكثر تعقيداً)، أو يمكن أن يكونوا سلبي الصبغي فيلادلفيا فعلاً. ويظهر المنتج BCR/ABL لدى مرضى المجموعة الأولى، ويبدون نفس المرض مثلهم مثل المرضى موجبي الصبغي فيلادلفيا، بينما لا يظهر هذا المنتج لدى المرضى سلبي الصبغي فيلادلفيا الحقيقيين وله أسوأ إنذار.

ثانياً: عادة ما تدل تبدلات الصبغيات الإضافية على سوء الإنذار. فعلى سبيل المثال يسير المرض سيراً حميداً عند مرضى AML ابيضاض الدم النقوي الحاد الذين يملكون الإزفاء $t(8;21)$ حتى تظهر تبدلات صبغية جديدة، تكون عادة فقداناً في صبغي جنسي X أو زيادة الصبغي رقم -8- الإضافي أو شذوذات أخرى في الخلايا المصابة، إذ يسوء المرض. ويصبح بعدها أكثر عدوانية ومقاومة للمعالجة الكيميائية، ويصعب الشفاء، ويقصر العمر النسبي. علاوة على ذلك، يمكن القول بوجود علاقة ترابطية بين عدد التغيرات الإضافية وزيادة سوء الإنذار.

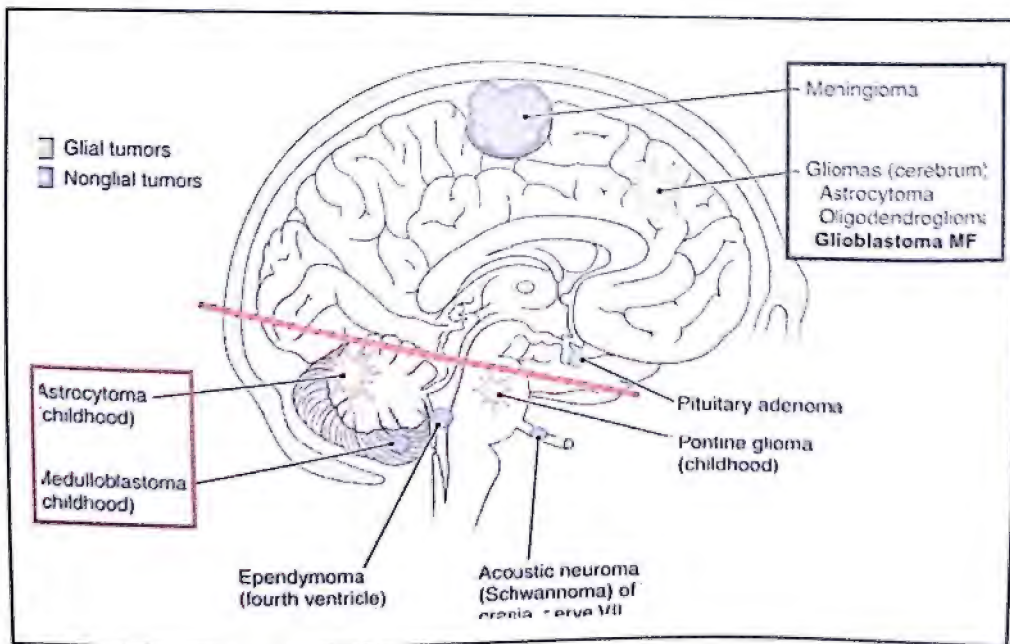
ثالثاً: يمكن أن يسبق حدوث شذوذات النمط النووي الدلالات السريرية لتسارع المرض والنعكس. على سبيل المثال، ينذر وجود تغيرات صبغية ثانوية (ولا سيما الصبغي الإسوي Isochromosome 17q، تتلث الصبغي رقم -8-، تتلث الصبغي رقم -19-، فقدان الصبغي Y، أو وجود صبغي فيلادلفيا إضافي) حدوث طور الأرومات الحادة Acute Blastic Phase عند مرضى CML موجبي الصبغي فيلادلفيا، ويمكن أن تظهر هذه التبدلات قبل ظهور أي دليل سريري أو دلائل أخرى لهذا الطور بأسابيع إلى أشهر قليلة.

10.14. الاستئصال الوراثي في السرطان Genetic Counseling of Cancer:

نعرض فيما يلي النقاط الرئيسة للاستئصال الوراثي في السرطانات الشائعة لدى المرضى المصابين وعائلاتهم. ويلاحظ هنا أن اختطار الرجعة عند الأقارب الآخرين يكون منخفضاً من أجل الأنماط الورمية الشائعة منها دون قصة عائلية. ويجب الشك بوجود متلازمة السرطان العائلي (نوعي أو لا نوعي التوضع) عند وجود قصة عائلية إيجابية، أو إذا كان البدء مبكراً عند المستفت، أو عند وجود أورام أولية متعددة العوامل. كما يجب الشك بوجود اضطراب يعود لعمل جين فرداني إذا ما ظهرت سمات أخرى.

1.10.14. أورام الدماغ Brain Tumors:

أورام الدماغ البدئية غير شائعة، إذ تكون نسبة الشيوع (1 إلى 100,000). وتميل هذه الأورام لتظهر في الحفرة الخلفية Posterior Fossa من القحف عند الأطفال، ومعظمها يقع فوق الخيمة الدماغية Supratentorial عند البالغين. وتكون معظم هذه الأورام فردية الانتشار في المجتمع، ويكون خطر حدوثها عند الأقارب منخفضاً. ويجب استبعاد اضطراب الجين الفرداني إذا كانت هناك سمات مشتركة (مثال: ورم ليفي عصبي Neurofibromatosis النمط 1 و2، التصلب الجذبي Tuberous sclerosis، مرض Von Hippel-Lindau ومتلازمة Li-Fraumeni (الشكل 10-14)).



(الشكل 10-14): أهم أورام الدماغ الشائعة.

2.10.14 . سرطان الثدي Breast Cancer:

تقدر نسبة خطورة الحياة للأنثى المصابة بسرطان الثدي بـ (1 إلى 12). ويكون المرض وراثياً بنسبة 5-10% وتختلف هذه النسبة حسب العمر (أكثر من 35% في من أعمارهن أقل من الثلاثين، وأقل من 1% في سن فوق الثمانين). وتعود معظم حالات سرطان الثدي الموروثة إلى طفرات في *BRCA 1* بنسبة نحو 60% أو في *BRCA 2* بنسبة نحو 35%، وأقلية صغيرة تعود إلى مرض توسع الشعيرات الرنحي Ataxia Telangiectasia (حاملون)، وإلى متلازمة Li-Fraumeni وغير ذلك من اضطرابات نادرة تعود لاضطرابات الجين الفردي الأخرى. ويجب الاشتباه بوجود سرطان ثدي موروثة إذا كانت البدء في عمر مبكر (تحت سن الأربعين)، أو كانت الإصابة في الثديين ثنائية الجانب، أو ترافق ذلك بسرطان المبيض، أو عند وجود قصة عائلية لسرطان الثدي أو المبيض.

3.10.14 . سرطان عنق الرحم Carcinoma of Cervix:

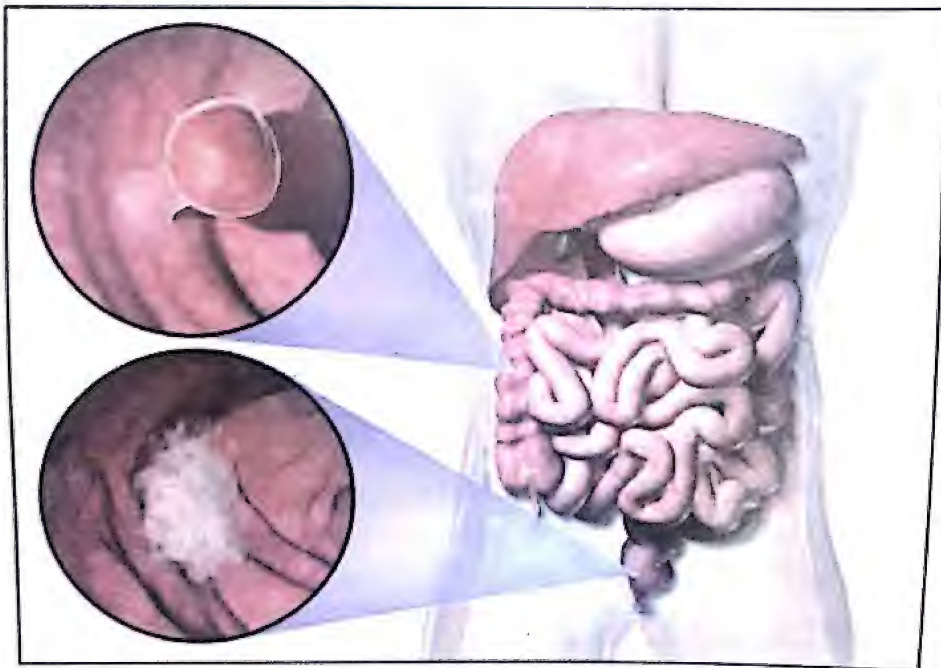
يصيب سرطان عنق الرحم نحو (1%) من النساء، ويبدو أن العوامل الوراثية الوسيطة (خاصة اشتراك بروتينات فيروسات الورم الحليمي PAPILOMA نمط E6 – E7) هي المحددات الأولية له. ويمكن أن يتضمن ذلك وجود الاستعداد الوراثي عند بعض النساء، إذ إن (88%) من المريضات يمكن المستضد (HLA-DQ-W3) بينما تقدر النسبة العامة بـ (50%). ولا تزداد نسبة خطر الإصابة عند الأقارب على النسبة العامة في المجتمع، وينصح بالتقصي بإجراء فحص خلوي روتيني لمسحة عنق الرحم للمراقبة.

4.10.14 . سرطان المعدة والمريء Carcinoma of Stomach / Esophagus:

يبدو أن العوامل البيئية تؤدي دوراً مهماً في نشوء سرطان المعدة والمريء، وبناء عليه يكون اختطار الرجعة بالنسبة للأقارب متدنياً. الاستثناء المهم والوحيد لذلك هو اضطراب في جين فردي إذ يحدث سماكة في جلد راحة اليد، وأخمص القدم (تفان Tylosis)، ويحدث استعداد لسرطان المريء يورث كخلة جسمية سائدة.

5.10.14. سرطان القولون والمستقيم (Colorectal Cancer):

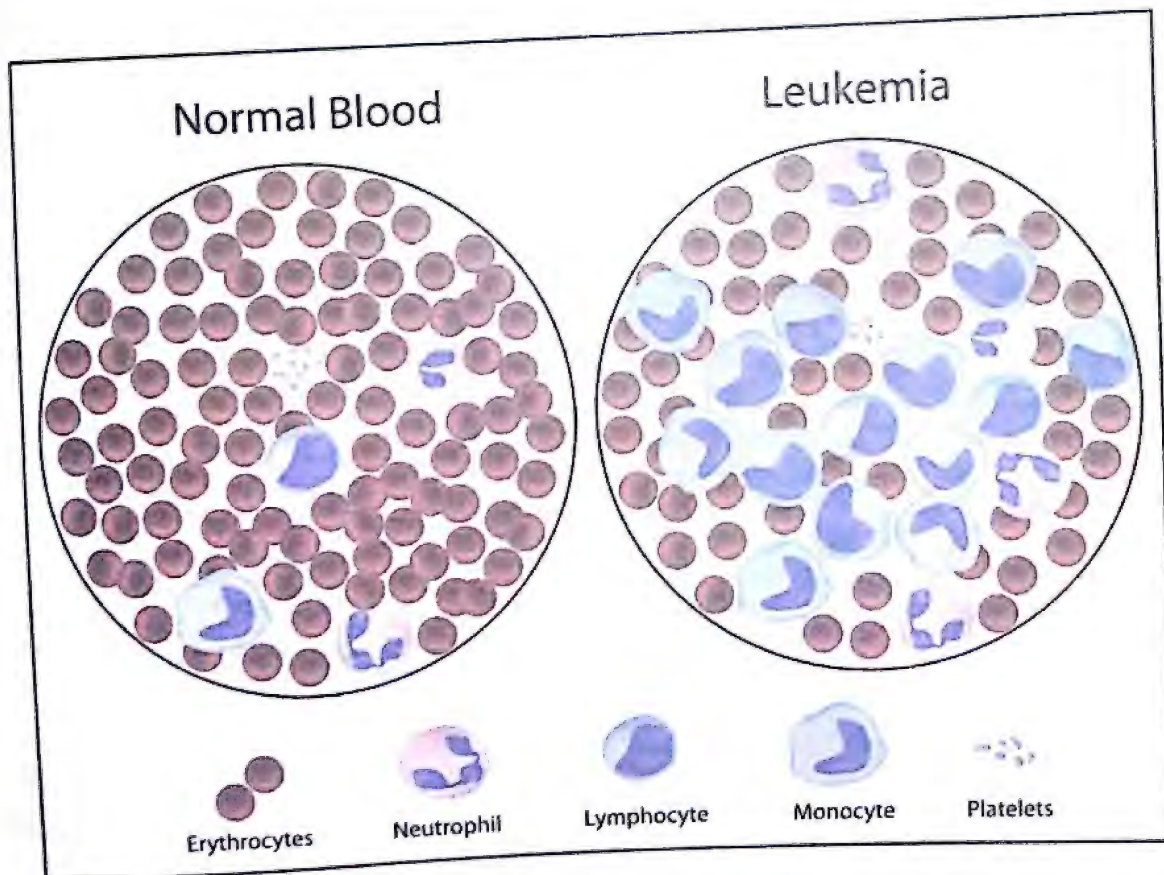
نسبة الخطورة السكانية بالنسبة لسرطان المستقيم والقولون هي واحد لكل خمسين في المملكة المتحدة، والمرض وراثي في 5-15 %. معظم هذه الحالات الوراثية بسبب سرطان القولون بدون داء السلائل السلالي الوراثي (Hereditary Non-Polyposis Colon Cancer: HNPCC)، أما داء السلائل المعوي، فمسؤول عن أقل من 1 %. يمكن توقع سرطان القولون الوراثي إذا أظهر المرض عدم ثبات السائل الصغري Microsatellite instability وهو مؤشر مميز لـ HNPCC، وإذا وجدت سلائل متعددة، وكذلك إذا كان بدء المرض مبكراً، وإذا كان المرض متعدد البؤر Multifocal، وأخيراً إذا كان هناك قصة عائلية بوجود سرطان قولون أو مستقيم أو سرطانات تتعلق بها. إذا لم تتوفر معلومات عن المُستلفت Proband عندها تكون نسبة الخطورة واحد إلى 17 عند الأقارب من الدرجة الأولى، وترتفع هذه النسبة إلى واحداً من عشرة إذا كان المُستلفت تحت 45 عاماً من العمر عند وقت مراجعته بالمرض. إذا أصيب قريب من الدرجة الأولى أو من الدرجة الثانية، تكون نسبة الخطورة واحد من 12، ولكن إذا أصيب اثنان من الأقارب من الدرجة الأولى تصبح نسبة الخطورة واحداً من ستة (الشكل 14-11).



(الشكل 14-11): سرطان القولون والمستقيم.

6.10.14. ابيضاض الدم (Leukemia):

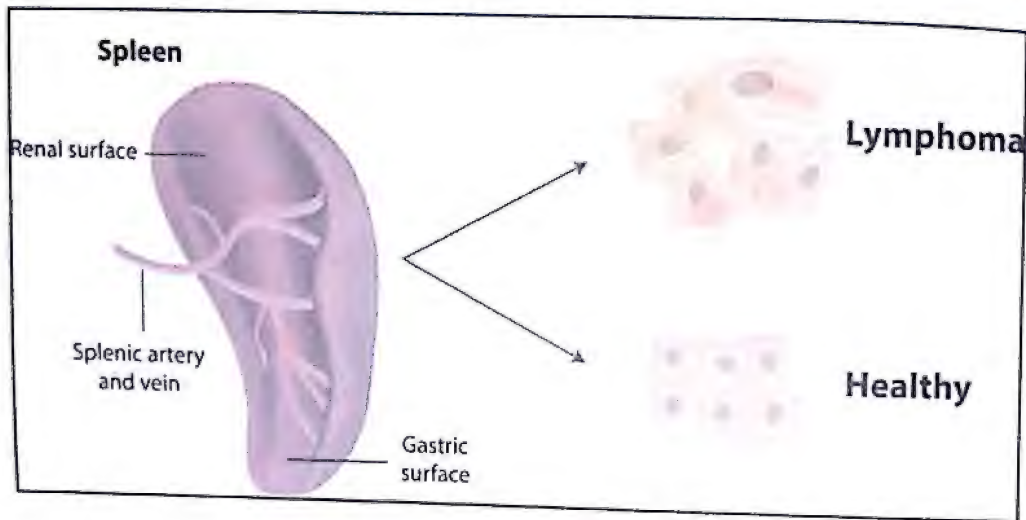
اختلفت النسب المقدرة في ابيضاضات الدم التي لها عنصر وراثي من صفر إلى 25 ٪. تبلغ نسبة التوافق في التوائم أحادية الزيجوت 25 ٪، ولكن يجب قبول ذلك بشيء من التحفظ، إذ إن التوافق نادر بعد سن الخامسة، وتميل التوائم أن تصاب خلال أسابيع إلى أشهر بين بعضها بعضاً، وهم عادة ما يتشاركون في الشذوذات الوراثية الخلوية، مما يوحي باحتمال الانتقال التصالبي Cross transfusion نسيلة خبيثة فردانية من خلال دوران المشيمة المشترك. نسبة الخطورة بالنسبة للأشقاء في ابيضاضات الدمومية في مرحلة الطفولة من ضعفين إلى أربعة أضعاف نسبتها في عموم السكان، ولكن الخطورة المطلقة منخفضة تحت هذه الظروف (1 من كل 100-300)، بجانب ذلك، فإن بعض اضطرابات الصبغيات (مثل، تثلث الصبغي 21)، واضطرابات الجين الفردي (مثل، متلازمة بلوم Bloom، ومتلازمة فانكوني)، تظهر زيادة خطورة حدوث ابيضاضات الدم الحادة (الشكل 14-12).



(الشكل 14-12): ابيضاض الدم.

7.10.14. اللمفومة (الورم اللمفي) (Lymphoma):

لقد قدرت خطورة إصابة قريب مريض مصاب بداء هودجكن بنحو سبعة أضعاف إذا قورنت بعامة السكان التي لها نفس الأعمار، وتكون تحت عمر 45 سنة، ولكن لا تزداد الخطورة في الأعمار الأكبر من ذلك. بينت تحاليل الأشقاء، زيادة إحصائية معتبرة بالنسبة للمشاركة في الزمر النسجية HLA، مما يوحي بمشاركة في هذا الموضع من الاستعداد الوراثي (الشكل 13-14).



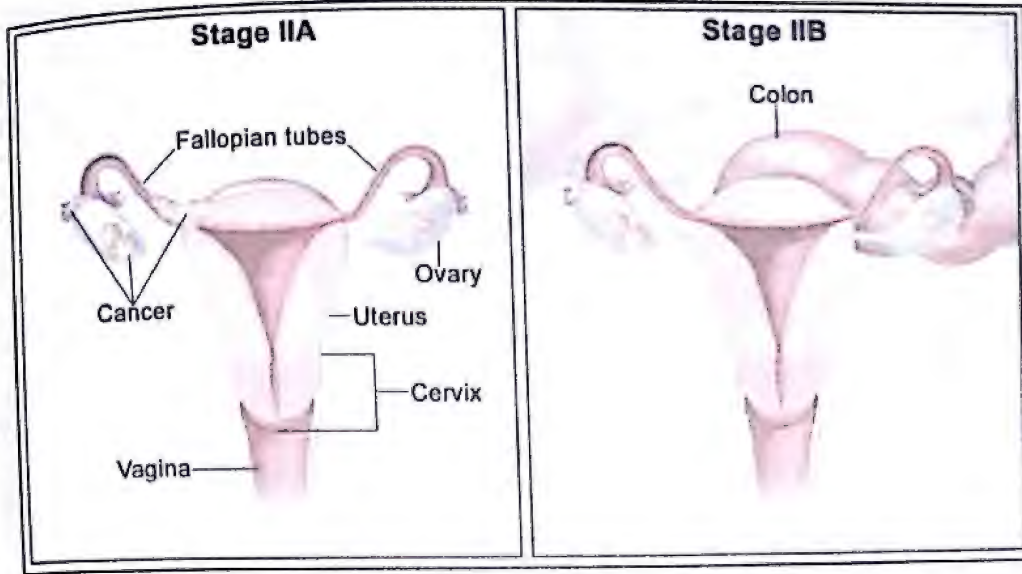
(الشكل 13-14): اللمفومة (الورم اللمفي).

8.10.14. الساركومة العظمية (Osteosarcoma):

تعدّ الساركومة العظمية ورماً نادراً، وعادة ما يشاهد فرادياً Sporadic وخطورة الوقوع في الأقارب قليلة. تكون نسبة الخطورة أعلى في المصابين بالورم الأرومي الشبكي (Retinoblastoma)، ومرضى العرن (Exostosis).

9.10.14. سرطان المبيض (Ovarian Cancer):

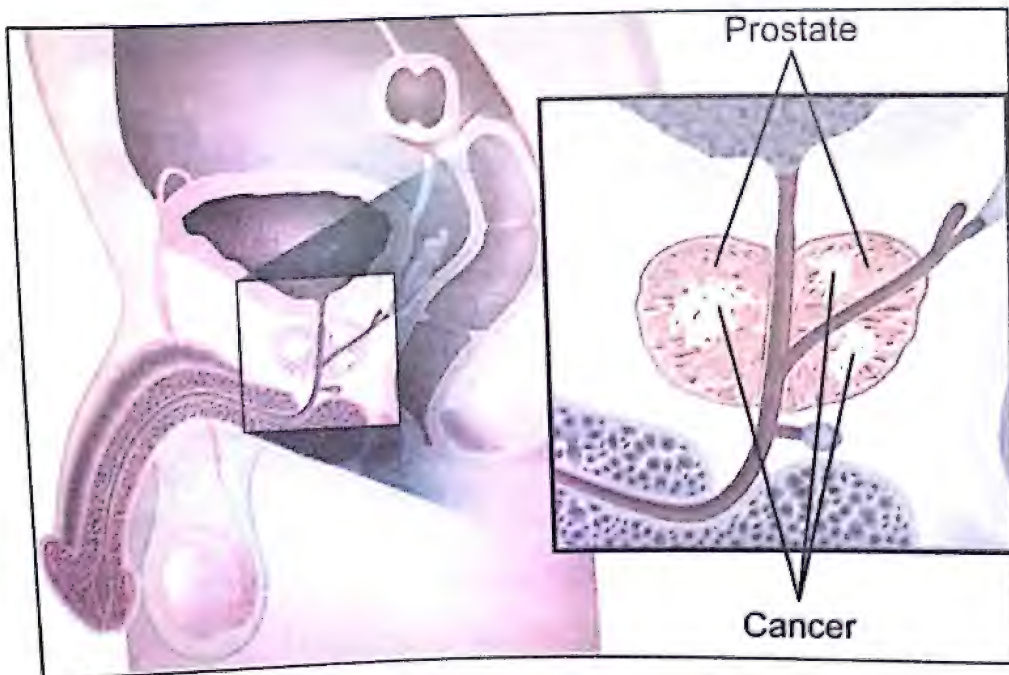
خطورة حدوث سرطان المبيض على مدى عمر الأنثى هو واحد لكل 50-100 في أوروبا والولايات المتحدة الأمريكية، والمرض وراثي في 5-10% من الحالات. تسبب الطفرات في الجين *BRCA 1* (سرطان الثدي الوراثي النمط 1)، نحو 35-50% من سرطان المبيض الوراثي، ولابد للاستباه بهذا السبب والأسباب الوراثية الأخرى، إذا كان بدء تكون الورم في الأعمار المبكرة (تحت 50 سنة من العمر)، أو إذا كان الورم في كلا الطرفين، أو إذا وجدت قصة عائلية لوجود سرطان المبيض أو الثدي (الشكل 14-14).



(الشكل 14-14): سرطان المبيض.

10.10.14. سرطان الموثة (البروستاتة) (Prostatic Cancer):

يعتبر سرطان البروستاتة الخباثة الأكثر شيوعاً عند الذكور، ونسبة خطورة الوقوع في مدى حياة الرجل هي واحد لكل 11 في الولايات المتحدة الأمريكية. تزداد الخطورة بالنسبة للأقارب من الدرجة الأولى بواقع 3-11 ضعفاً (الشكل 14-15).



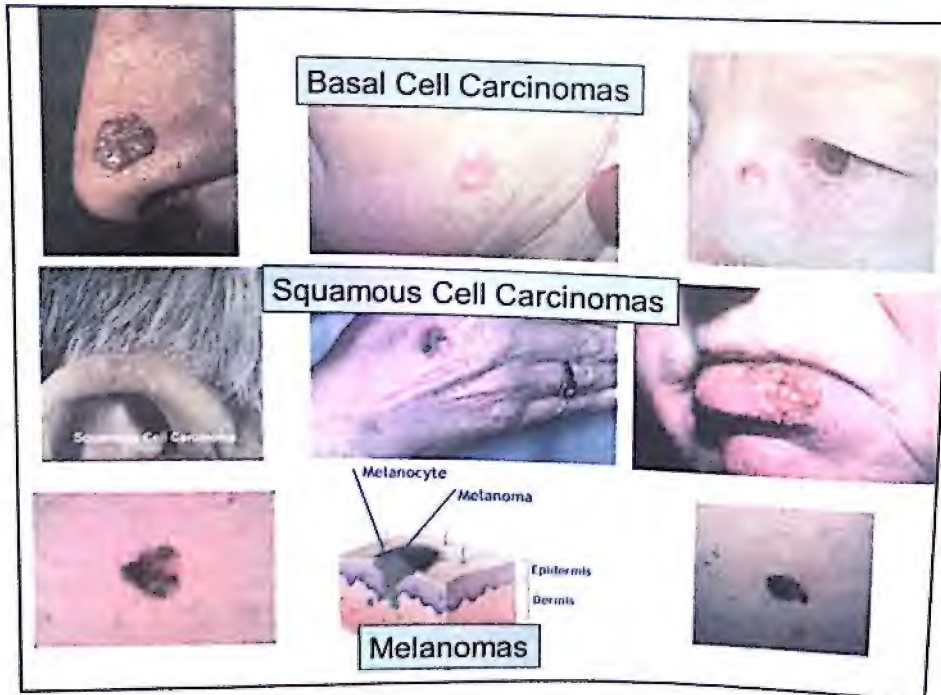
(الشكل 14-15): سرطان الموثة (البروستاتة).

11.10.14. سرطانة الخلية الكلوية (Renal Cell Carcinoma):

سرطانة الخلية الكلوية غير شائعة، ونحو واحد بالمئة تورث كخلة سائدة جسدية (التي قد تكون المظهر الوحيد، أو قد تكون جزءاً أساسياً من داء فون هيبيل-ليدو Von Hippel-Lindau Disease).

12.10.14. سرطان الجلد (Skin Cancer):

يمكن لاضطرابات الجين الفردي أن تسبب أي واحد من الأنماط الثلاثة الرئيسية لسرطان الجلد. بالرغم من أن الأسباب البيئية بشكل عام أكثر أهمية. خمسة إلى عشرة بالمئة من الميلانوم الخبيث يكون وراثياً كخلة سائدة جسدية (الميلانوم الخبيث اللانمطي العائلي)، بالنسبة لسرطانة الخلية القاعدية Basal Cell Carcinoma فقد تكون بسبب متلازمة سرطانة الخلية القاعدية الوَحمانية Nevroid Basal Carcinoma Syndrome، أو بسبب جفاف الجلد الصباغي Xeroderma Pigmentosum، في حين قد يكون سبب سرطانة الخلية الحشرقية Squamous Cell Carcinoma فقر دم فانكوني، أو جفاف الجلد الصباغي، ومتلازمة الورم الظهاري الحشفي الذاتي الشفاء المتعدد Multiple Self-Healing Squamous Epithelioma Syndrome (الشكل 15-16).



(الشكل 14-16): سرطان الجلد.

13.10.14. سرطان الخصية (Testicular Cancer):

تزداد نسب الخطورة بالنسبة للأشقاء الذكور 8 أضعاف، وبالنسبة للأولاد أربعة أضعاف. تميل الحالات العائلية أن تكون بداية التشخيص في سن مبكرة، وزيادة نسبة خطورة ظهور الورم ثنائي الجانب، كما تظهر تلك الحالات وراثية سائدة جسمية مع اقترانها على الذكور.

14.10.14. سرطان الدرق (Thyroid Cancer):

ينقسم سرطان الدرق نسيجياً إلى النوع الحليمي Papillary، والنوع الجريبي Follicular وأنماط أخرى مختلفة تشمل الأورام اللبية. يترافق هذا النوع اللبي مع أورام غدية صماوية متعددة، ولكن بالنسبة للأنماط غير اللبية، فإن الخطورة العامة تزداد خمسة أضعاف (بالمقارنة مع الانتشار في عامة السكان وهي 7/100000 في الذكور و 9/100000 في الإناث).

15.10.14. داء السلائل الغدومي العائلي (داء السلائل القولونية، متلازمة جاردنر)

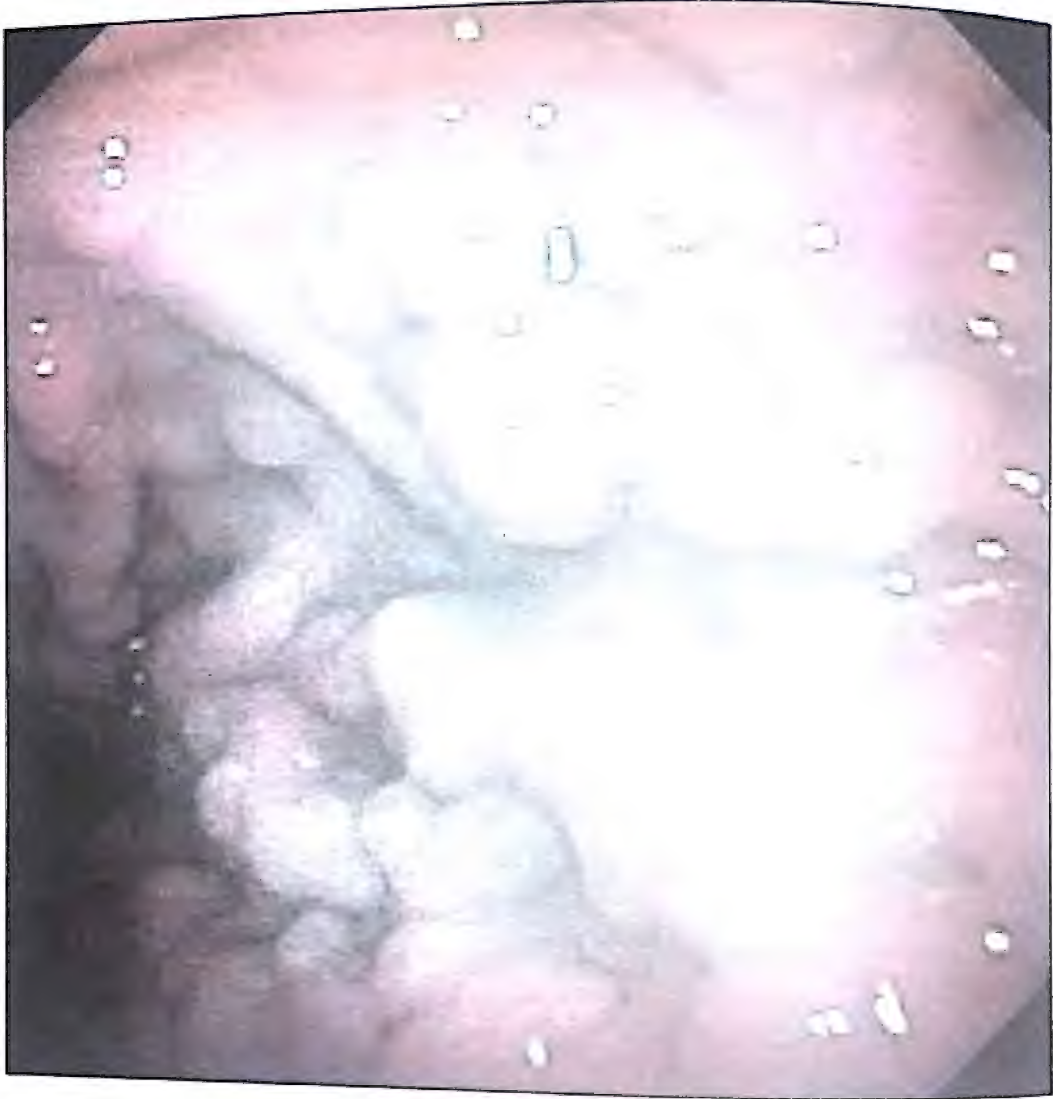
(Gardner Syndrome, Polyposis Coli, Familial Adenosis Polyposis; FAP)

يوجد الكثير من السلائل المعوية (أكثر من 100 وخاصة في القولون)، منذ الطفولة، كما يوجد فرط تنسج ولادي للظهارة الصباغية الشبكية (CHRPE في 80% من العائلات)، ويوجد أيضاً كيسات بشرية Epidermoid cysts في ثلثي الحالات، ولاسيما في فروة الرأس، وأخيراً توجد أورام عظمية (Osteomas) على الفك (90% من الحالات).

تحدث استحالة خبيثة في سلائل المستقيم/قولون 100%، مما قد يستدعي إجراء الجراحة الوقائية. زيادة الخطورة من حدوث السرطان في الجهاز المعدي المعوي العلوي تصل إلى 2%.

يورث داء السليلات القولونية العائلية كخلة سائدة جسمية، وتسببها طفرات في الجين الكابت لورم داء السلائل الغدومية القولونية. يوجد الكثير من الطفرات، ولكن عادة ما تؤدي إلى قطع البروتين Protein truncation مع خبن (AAAGA, 5bp) عند النوكليوتيدات 3927-4931، ويحدث ذلك في 10% من جميع الطفرات. تكون درجة الانتفاذ (Penetrance) عالية (لتكون تامة تقريباً عند سن الأربعين)، ولكن توجد بعض الاختلافات في العائلات بالنسبة لسن بدء المرض. يمكن كشف الحالات قبل ظهور

الأعراض بإظهار (CHRPes) في العائلات التي تظهر هذه الملامح، وكذلك بتحليل الدنا. يحتاج العاملون للجين إلى تنظير هضمي سفلي دوري، ويجب وضع الجراحة الوقائية في الاعتبار. تردد هذا المرض واحد لكل ثمانية آلاف (الشكل 14-17).



(الشكل 14-17) : داء السلائل الغدومي العائلي (داء السلائل القولونية، متلازمة جاردنر).

16.10.14. الميلانوم الخبيث اللانمطي العائلي (Familial Atypical Malignant Melanoma; FAMM):

يوجد وحامات مصطبغة مختلفة التنسج Dysplastic ومتعددة، مع زيادة الخطورة من التحول إلى الميلانوم الخبيث (الشكل 14-16).

يورث كخلة سائدة جسدية، مع بعض البراهين التي توحي بتغاير وراثي (Genetic Heterogeneity).

17.10.14. متلازمة فانكوني (Fanconi syndrome):

يحدث نقص شامل لكريات الدم (Pancytopenia) وتكون متروية من 5-10 سنوات، كما توجد تصبغات جلدية، وتشوهات ولادية (وخاصة عيوب في الأطراف)، وقصر القامة. هناك تحسس فوق العادة للمواد المحدثة للتربط التصالبي للدنا DNA Cross-Linking Agents مثل Mitomycin C وكذلك انقسام الصبغي المحرض بالدايوكسي بيوتان Dioxibutane-Induced Chromosome Breakage يسبب زيادة اختطار حدوث ابيضاض الدم غير اللماوي الحاد 5-10٪، وكذلك سرطانة الخلية القاعدية، وسرطانة الخلايا الحشوية. تورث كخلة متتحة جسدية، مع تغاير وراثي. يمكن التشخيص قبل الولادي بتحليل الدنا، أودراسات انقسام الصبغيات.

18.10.14. سرطان القولون الوراثي غير السلانلي (متضمناً متلازمات لينش I & II)

Hereditary Non-Polyposis Colon Cancer (HNPCC, Including Lynch Syndromes I & II)

تعتبر الأورام القولونية المستقيمة هي الأكثر شيوعاً 60٪ وتميل إلى الوجود في الجانب الأيمن (65٪ بالمقارنة مع 25٪ أورام فردية). من أنماط الأورام الشائعة الأخرى، يمكن تعداد أورام بطانة الرحم، وسرطان الثدي، والمعدة، والبنكرياس. أما الأنماط الأقل شيوعاً من عائلات سرطان القولون الوراثي غير السلانلي (HNPCC) فتشمل سرطان المبيض أو الكلى، وأورام الدماغ.

تظهر حالات (HNPCC) تغايراً وراثياً يمكن أن تسببه طفرات في أربعة مواضع جينية ($PMS2 - A$, $PMS1$, 30%, $MLH1$, 60%, $MSH2$) & كل منها يبدي وراثة سائدة جسدية مع نفاذ غير تام 75-90٪ ولاسيما عند النساء.

تظهر الأورام القولونية المستقيمة في الأفراد المصابين عدم استقرار للتتابع الصغيرة، وتظهر على وجه العموم 10-15٪ من هذه الأورام عدم الاستقرار هذا (الكثير منها بسبب HNPCC، وبعض منها بسبب طفرات جسدية). يمكن التعرف على الحاملين للجين الطافر بواسطة تحاليل الدنا، ويجري لمن يحمل الجين الطافر تنظير قولون دوري. يعتقد أن الشيوخ المشترك لطفرات جين (HNPCC) هي واحد لكل منتين من مجموع السكان.

19.10.14. النمط 1 من سرطان الثدي الوراثي (Inherited breast cancer type 1)

يلاحظ وجود تجمعات عائلية لسرطان الثدي أوسرطان المبيض، تظهر الإناث الحاملات لطفرات الجين *BRCA 1* خطورة عالية لكل من الثدي (50% عند الوصول إلى عمر 50 سنة، و80% عند عمر 70 سنة)، أما بالنسبة لسرطان المبيض (23% عند عمر 50 سنة، و63% عند عمر 70 سنة). يكون لدى الحاملين للجين الطافر *BRCA 1* زيادة اختطار حدوث وقوع السرطان القولوني المستقيمي، وسرطان البروستاتة.

يورث سرطان الثدي الوراثي من النمط 1 كخلة سائدة جسدية، وتسببه مجموعة مختلفة من الطفرات (التي عادة ما تؤدي إلى فقد الوظيفة). يمكن الكشف عن حاملي الجين فيما قبل ظهور الأعراض باستعمال تحاليل الدنا، ثم يعرض الحاملون للفحص الاستقصائي الدوري. يبلغ المجموع الكلي لسرطان الثدي الوراثي من النمط 1 نحو 60% من كل أنواع سرطان الثدي الوراثي (نحو 80% من العائلات التي لديها سرطان ثدي وسرطان مبيض، و45% من العائلات التي لديها سرطان ثدي فقط)، كما يوجد لدى واحد لكل 200-500 من السكان طفرة في *BRCA1*.

20.10.14. النمط 2 من سرطان الثدي الوراثي

(*BRCA 2* Inherited breast cancer type II)

يلحظ وجود تجمعات عائلية لسرطان الثدي لدى الحاملين لطفرات الجين *BRCA 2* خطورة مرتفعة لسرطان الثدي في كل من الإناث (80% عند سن السبعين)، والذكور (5% عند سن السبعين).

يورث سرطان الثدي الوراثي النمط 2 كخلة سائدة جسدية، ويسببه عدد مختلف من الطفرات في *BRCA 2*. يمكن الكشف عن الحاملين للاعراضيين بتحليل الدنا، وينصح بإجراء التقصي الدوري عن الورم. يشكل سرطان الثدي الوراثي من النمط 2، 35% من سرطانات الثدي الوراثية، ولكنه لا يشاهد في العائلات التي لديها سرطان ثدي وسرطان مبيض معاً.

21.10.14. متلازمة سرطانة الخلية القاعدية الوحمانية

:Naevoid basal cell carcinoma syndrome (Gorlin-Goltz syndrome)

تظهر حول وقت البلوغ وحمات جلدية (حطاطات Papules قرنفلية أو بنية)، وكذلك سرطانات متعددة للخلية القاعدية Basal cell carcinoma ويكون بدء الظهور في سن مبكرة 75%، وتظهر أيضاً كبات قرنية Keratocysts من منشأ سني في الفك، وبشكل راجع 85%، كما توجد وهداث Pits على راحة الكف وأخمص القدم 65%، يوجد أيضاً فرط تباعد المفارق Hypertelorism وبروز العظام الجيبية والحدارية للجمجمة.

تزداد الخطورة من حدوث ورم الأرومة النخاعية Medulloblastoma لدى المرضى، وهم حساسون أكثر من اللزوم تجاه الإشعاعات. تسبب هذه الحالة طفرات في جين اللطخة البشرية Human patched gene، تورث الحالة كخلة سائدة جسمية مع انتفاذ مرتفع 97 %، ولكن يحدث تعبير مختلف جداً. تكون نسبة التردد واحد في كل 57000، وهذه المتلازمة مسؤولة عن واحد لكل 200 مريض مصاب بواحد أو أكثر من سرطانات الخلية القاعدية (الشكل 14-16).

22.10.14. الورم الأرومي العصبي (Neuroblastoma):

يشاهد كتلة في البطن أثناء مرحلة الطفولة. يختلف الانذار حسب التصنيف المرحلي للمرض. يكون المرض فرادياً على الغالب مع وراثة سائدة جسمية تكون واضحة في أقل من 1 %. الخطورة المحسوبة بالخبرة العملية بالنسبة للأشقاء أو النسل في غياب قصة عائلية تكون أقل من 6 %. يمكن التقصي الباكر، وذلك عن طريق مقايسة الكاتيكولامين في البول بشكل دوري منذ الولادة حتى سن السادسة من العمر.

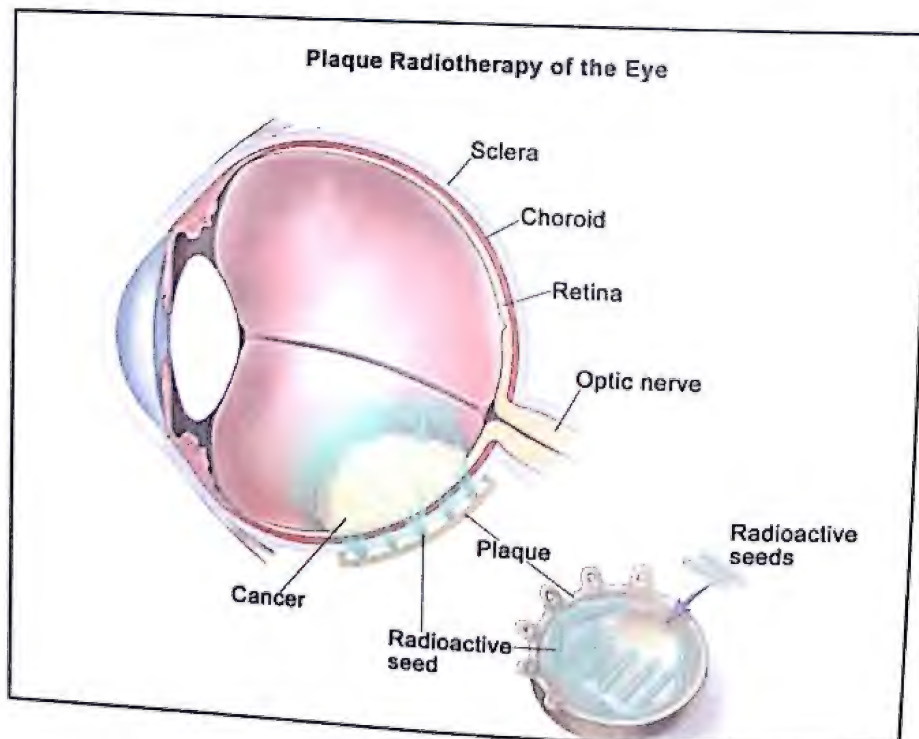
23.10.14. الورم الشبكي الأرومي (Retinoblastoma):

يكون البدء عادة في السنوات الخمس الأولى من العمر، مع وجود منعكس عين القطة البيضاء (White cat's eye reflex)، أو حول، 20-30% مزدوج الجانب، ويميل إلى الحدوث مبكراً (الشكل 14-18).

يتم شفاء 90% من المرضى إذا كان أحادي الجانب وصغيراً. في الحالات الوراثية، يتكون لدى 30-20% منهم، زيادة على ذلك، ورم أولي، خاصة ساركومة عظمية أثناء الطفولة Osteosarcoma أو ميلانوم، أو سرطان المثانة، أو الرئة أو البنكرياس وذلك عند البالغ.

يحدث بمتواتر واحد لكل 18000-20000 ولادة. الحالات العائلية (التي تشمل كل الحالات مزدوجة الجانب و15% من الحالات أحادية الجانب) تورث كخلة سائدة جسدية مع انتفاذ مقداره 90%، وتسببها مجموعة مختلفة من الطفرات في الجين الكابت للورم RBI.

يمكن تشخيصه قبل الولادة، وقبل ظهور الأعراض ممكن بواسطة تحاليل الدنا، في الحالات العائلية. لكن الحالة أحادية الجانب الفرادية، تكون الخطورة بالنسبة للأشقاء 0.8% وبالنسبة للنسل 7.5%، وهؤلاء الأطفال لا بد أن يخضعوا لتتظير العين دورياً. من النادر أن يحدث تراجع للحالة تلقائياً تاركاً ندبة في الشبكية، ولا بد من فصل هذه الحالة من الحالات التي تبدو معزولة بتقييم فحص العين عند الوالدين. في حالة الوالدين الطبيعيين لأبن لديه المرض مزدوج الجانب، تكون نسبة الخطورة للأشقاء 5%.



(الشكل 14-18): الورم الشبكي الأرومي.

24.10.14. ورم ويلمز (الورم الأرومي الكلوي) (Wilms Tumor (Nephroblastoma):

عادة ما يشاهد في الطفولة الباكرة كتكتلة كلوية يكون لها شكل نسجي مميز، إنذاره مختلف، ويعتمد على التأخر في وضع التشخيص. 5-10% من الحالات تكون ثنائية الجانب.

يكون التواتر واحداً لكل 10000، وتكون غالباً حالات فردية، 1% منها عائلي (سائد جسدي) غالباً ما يكون ثنائي الجانب. قد تترافق مع خبن صغري Microdeletion في الموضع 13p11، وبعض هؤلاء المرضى لديهم غياب القزحية في الوقت نفسه، وكذلك تشوهات في السبيل البولي التناسلي، وإعاقة في النمو العقلي والجسدي (متلازمة واجر) (WAGR Syndrome) يُظهر 30% من الأورام فقد تغير الزيجوت بالنسبة للذراع القصير للصبغي 11 (11p)، وفي هذه الحالات يحدث فقد انتقائي 90% للأليل الأرومي. وما يشير الدشة ألا تظهر الحالات العائلية أي دلائل على الارتباط ب (11p).

25.10.14. جفاف الجلد الصباغي (Xeroderma Pigmentosum):

هو عبارة عن عيب في قطع الدنا وتصحيحه بعد التعرض للأشعة فوق البنفسجية. يؤدي إلى حدوث سرطانات جلدية متعددة، وتندبات قرنية. يوجد على الأقل تسعة أنماط فرعية، كل واحدة تورث كخلة متنحية جسدية. التشخيص قبل الولادي ممكن بمقايضة قدرة الدنا على الإصلاح (DNA Repair Assay) بواسطة تحليل الدنا غير المباشر. نسبة التواتر المشترك واحد لكل 70 ألفاً.

الفصل الخامس عشر الوراثة السكانية البشرية Human Population Genetics

المحتويات Contents

- | | |
|-------------------------------|--|
| 1.4.15. حجم المجموعة السكانية | 1.15. الألائل والأنماط الجينية |
| 2.4.15. تأثير الأصل | 2.15. معادلة هاردي-فاينبرغ |
| 3.4.15. الهجرة | 3.15. معادلة هاردي فاينبرغ بالنسبة للجينات المرتبطة |
| 4.4.15. التزاوج | بالصبغي X |
| | 4.15. العوامل المؤثرة في الأنماط الجينية وانتقال الألائل بين الأجيال المتعاقبة |

السكان أو الجمهرة (Population) هم مجموعة من الأفراد ينتمون لنفس النوع (Species) ويعيشون في منطقة جغرافية معينة ويتزاوجون فيما بينهم. يبدي الأفراد ضمن المجموعة السكانية اختلافاً وراثياً (Genetic variation) على الرغم من التقارب الكبير بينهم على مستوى النمط الظاهري. وتعد طريقة مقارنة التسلسلات الجينية بين الأفراد هي أفضل طريقة لمعرفة الاختلافات الوراثية ما بين الأفراد. لقد وُجدت التغيرات الجينية في المناطق المُرَمَّزة وتلك غير المُرَمَّزة. أي يمكننا أن نجد عدة أنماط جينية في مجتمع سكاني وربما عدداً أقل منها من الأنماط الظاهرية. والسؤال الذي يطرح نفسه، ما عدد الأنماط الجينية في مجتمع ما؟ وما هي نسبة انتشارها؟ وهل يتم انتشارها بشكل عشوائي؟ وما العوامل المؤثرة في هذه الأنماط الجينية؟

تعتمد الوراثة السكانية على علم الحساب وتتأثر بحجم المجتمع والهجرة وحدث التزاوج العشوائي وطريقة انتقال الألائل من جيل إلى الذي يليه.

1.15. الألائل والأنماط الجينية

إن نظام الأليلين والموقع الواحد هي الطريقة الأبسط لشرح مبادئ الوراثة السكانية. نفرض أن موضعاً جينياً اسمه A يملك أليلين A_1 و A_2 . لتحديد التركيب الجيني لمجموعة بشرية يتم مسح عدد كبير من الأفراد ثم تُسجل تكرارات الأنماط الجينية: A_1A_1 و A_1A_2 و A_2A_1 و A_2A_2 . ولنفرض أن التكرارات المسجلة للأنماط الجينية السابقة هي 0.40 للنمط A_1A_1 و 0.40 للنمط A_1A_2 و 0.20 للنمط A_2A_2 ، نلاحظ أن مجموع التكرارات للموقع A تساوي 1، لأن هذه التكرارات تمثل كل البنى الثنائية الممكنة للموقع A. يمكن أن نحدد تكرار الأليل A_1 والأليل A_2 من تكرار الأنماط الجينية. مثلاً تكرار الأليل A_1 يساوي تكرار النمط الجيني A_1A_1 مضافاً إليه نصف تكرار النمط الجيني A_1A_2 . ولأن كل فرد يملك أليلين لذا فإن تكرار الأليل A_1 هو ضعف تكرار النمط الجيني A_1A_1 مضافاً إليه تكرار النمط الجيني A_1A_2 مقسوماً على 2:

$$\frac{2f(A1A1) + f(A1A2)}{2}$$

تُرمز f للتكرار (frequency).

ويمكن أن نبسط المعادلة لتصبح: تكرار الأليل A_1 : $f(A1A1) + \frac{1}{2}f(A1A2)$

وحسب مثالنا فإن تكرار A_1 هو: $A1 = 0.40 + 1/2(0.40) = 0.60$

أما تكرار A_2 فهو 1 مطروحاً منه قيمة تكرار A_1 ، أي: $1 - 0.60 = 0.40$. ويمكن أن تحسب تكرارية

A_2 مباشرة كما حسبناها بالنسبة للأليل A_1 كما يلي: $0.20 + 1/2(0.40) = 0.40$

إذا ما كانت العينة مكونة من 400 فردٍ نمطهم الجيني A_1A_1 ومن 400 فردٍ نمطهم الجيني A_1A_2 ومن 200 فردٍ نمطهم الجيني A_2A_1 عندها تحسب تكرار الأليل A_1 كما يلي:

$$A1 = \frac{(400 \times 2) + 400}{1000 \times 2} = 0.60$$

ويحسب تكرار الأليل A_2 كما يلي:

$$A2 = \frac{(200 \times 2) + 400}{1000 \times 2} = 0.40$$

يضرب عدد الأفراد متمائلي الألائل (A_1A_1 أو A_2A_2) في البسط بـ 2 لأن كل واحدٍ منهم يملك الأليلين في الموقع نفسه. وفي المقام يضرب العدد الكلي للأفراد بـ 2 لأن عدد الألائل في الموقع A هو ضعف عدد الأفراد.

إذا كانت الأنماط الجينية الوحيدة الموجودة هي: A_1A_1 ، A_1A_2 ، A_1A_3 ، A_2A_2 ، وكانت تكراريتها بالترتيب هي: 0.5، 0.2، 0.2، 0.1، عندها تحسب تكرار الألائل كما يلي:

$$A3 = 1/2(0.2) = 0.1 \text{ و } A2 = 0.1 + 1/2(0.2) = 0.2 \text{ و } A1 = 0.5 + 1/2(0.2) + 1/2(0.1) = 0.7$$

السؤال الذي يطرح نفسه هو ماذا سيحل بهذه التكرارات في الجيل التالي؟

يجب أن نأخذ هنا بالحسبان بعض الفرضيات كأن يكون حجم المجموعة السكانية كبيراً. وأن يكون التزاوج في المجتمع متعادلاً، أي لا يوجد تزاوج ما بين أفراد من أجيالٍ مختلفة. وأن لا يكون هناك هجرة إلى أو خارج المجموعة السكانية. وألا يكون هناك طفرة في الألائل في الموقع المدروس. وأن تكون الخصوبة متساوية بين الأفراد. وأن ينتج كل زوج العدد نفسه من الأولاد. لدى الأخذ بكل هذه الشروط نستطيع حساب تكرار الألائل والأنماط الجينية لدى مجموعة سكانية يكون فيه التكرار للأليل A_1 مساوياً لـ 0.60 وللأليل A_2 مساوياً لـ 0.40.

عندما يسود أليلان A_1 و A_2 في موقع جيني محدد في مجتمع سكاني ما، سيكون لدينا 9 احتمالات ممكنة للتزاوج في المجتمع نفسه بالنظر إلى الأنماط الجينية (جدول 1-15). يمثل التزاوج ما بين الأفراد الحاملين للنمط الجيني نفسه A_1A_1 و A_2A_2 ما نسبته 0.16 من مجمل عدد حالات الزواج في هذا الجيل المدروس، وهكذا دواليك.

(جدول 1-15) الاحتمالات الممكنة لدى تزوج رجل بامرأة في مجتمع سكاني ما. تُظهر جوانب الجدول تكرار الأنماط الجينية لكل جنس. وأما محتوى الجدول فيظهر نسبة التزاوج العشوائي ما بين الأفراد الحاملة لأنماط جينية معينة ضمن المجتمع السكاني.

		Females		
		0.40 A_1A_1	0.40 A_1A_2	0.20 A_2A_2
Males	0.40 A_1A_1	0.16	0.16	0.08
	0.40 A_1A_2	0.16	0.16	0.08
	0.20 A_2A_2	0.08	0.08	0.04

يُظهر (الجدول 15-2) تكرار الأنماط الجينية في الجيل الثاني، أي بين ذرية (Offspring) التزاوجات السابقة الذكر في (الجدول 15-1). تعتمد نسب الأنماط الجينية في الجيل الثاني على معدل تكرار تزاوج معين في المجتمع في الجيل الذي سبقه (الجيل الأول)، وعلى نسب ماندل المتوقعة من أجل هذا التزاوج. مثلاً أولاد التزاوج $A_1A_1 \times A_1A_1$ سيكونون A_1A_1 وتكرر الأولاد الحاملين لهذا النمط الجيني في المجتمع سيكون $1.0 \times 0.16 = 0.16$. لأن 0.16 هي معدل التزاوج ما بين ذكور وإناث يحملون النمط الجيني A_1A_1 .

بينما يُتوقع أن يؤدي التزاوج $A_1A_2 \times A_1A_2$ لظهور الأنماط الجينية التالية بين الأبناء: A_1A_1 بنسبة 0.25 و A_1A_2 بنسبة 0.50 و A_2A_1 بنسبة 0.25 (وفق نسب ماندل). وبما أن نسبة الزواج $A_1A_2 \times A_1A_2$ هي 0.16 في المجتمع فإن تكرار النمط الجيني A_1A_1 في المجتمع سيكون 0.25×0.16 ، وتكرر النمط الجيني A_1A_2 سيكون 0.50×0.16 ، وتكرر النمط الجيني A_2A_1 سيكون 0.25×0.16 . وبحساب الأنماط الجينية كلها بين الأبناء نجد أن تكرار النمط الجيني A_1A_1 هو 0.36 وأن تكرار النمط الجيني A_1A_2 هو 0.48 وأن تكرار النمط A_2A_1 هو 0.16 . هذه التكراريات مختلفة تماماً عن التكراريات في جيل الآباء، إذ كانت التكراريات في جيل الآباء أو الجيل الأول: 0.40 للنمط الجيني A_1A_1 ، و 0.40 للنمط الجيني A_1A_2 ، و 0.20 للنمط الجيني A_2A_1 . مع أن تكرار الألائل يبقى على حاله دون تغير وهو من أجل الأليل A_1 : $\frac{1}{2}(0.48)(0.36) = 0.60$ ومن أجل الأليل A_2 : $\frac{1}{2}(0.48)(0.16) = 0.40$.

(جدول 15-2) تكرارات الأنماط الجينية في نسل التزاوج العشوائي المذكور أعلاه. نلاحظ أن نسب تكرارات الأنماط الجينية: A_1A_1 و A_1A_2 و A_2A_1 لدى الجيل الثاني مختلفة عن تلك المشاهدة في الجيل الأول.

Matings (Male × female)	Frequency of matings	Offspring		
		A_1A_1	A_1A_2	A_2A_1
$A_1A_1 \times A_1A_1$	$(0.40)(0.40)$	0.16		
$A_1A_1 \times A_1A_2$	$(0.40)(0.40)$	0.08	0.08	
$A_1A_1 \times A_2A_2$	$(0.40)(0.20)$		0.08	
$A_1A_2 \times A_1A_1$	$(0.40)(0.40)$	0.08	0.08	
$A_1A_2 \times A_1A_2$	$(0.40)(0.40)$	0.04	0.08	0.04
$A_1A_2 \times A_2A_2$	$(0.40)(0.20)$		0.08	
$A_2A_2 \times A_1A_1$	$(0.20)(0.40)$		0.04	0.04
$A_2A_2 \times A_1A_2$	$(0.20)(0.40)$		0.08	
$A_2A_2 \times A_2A_2$	$(0.20)(0.20)$		0.04	0.04
		0.36	0.48	0.16

تُظهر الأرقام في (الجدول 15-3) أن تكرار الأنماط الجينية في الجيل الثالث مماثلة لما هي عليه في الجيل الثاني. لا بل أكثر من ذلك، إذا لم تتغير المُتَنَابِتَات (Parameters) السكانية، فإن تكراريات

الألائل والأنماط الجينية تُحفظ جيلاً بعد جيل. ما الذي حدث للنمط الجيني ولتكرار الألائل في الجيل الثالث؟

تدل ثباتية تكرارات الألائل والأنماط الجينية عبر الأجيال المتعاقبة على وجود حالة متوازنة سُميت في البداية بالتوازن الجيني (Genetic equilibrium).

(جدول 15-3): تكرارات الأنماط الجينية في نسل التزاوج العشوائي للجيل الثاني. نلاحظ أن نسب تكرارات الأنماط الجينية: A_1A_1 و A_1A_2 و A_2A_2 لدى الجيل الثالث هي نفسها المشاهدة لدى الجيل الثاني.

Matings (Male × female)	Frequency of matings	Offspring		
		A_1A_1	A_1A_2	A_2A_2
$A_1A_1 \times A_1A_1$	(0.36)(0.36)	0.13		
$A_1A_1 \times A_1A_2$	(0.36)(0.48)	0.085	0.085	
$A_1A_1 \times A_2A_2$	(0.36)(0.16)		0.06	
$A_1A_2 \times A_1A_1$	(0.48)(0.36)	0.085	0.085	
$A_1A_2 \times A_1A_2$	(0.48)(0.48)	0.06	0.12	0.06
$A_1A_2 \times A_2A_2$	(0.48)(0.16)		0.04	0.04
$A_2A_2 \times A_1A_1$	(0.16)(0.36)		0.06	
$A_2A_2 \times A_1A_2$	(0.16)(0.48)		0.04	0.04
$A_2A_2 \times A_2A_2$	(0.16)(0.16)			0.02
		0.36	0.48	0.16

2.15. معادلة هاردي - فاينبرغ

وَضَّحَ مبدأ التوازن الجيني في عام 1908 من قبل عالم الرياضيات الإنكليزي Godfrey. Hardy وعالم الفيزياء الألماني Wilhelm. Weinberg بشكل مستقل أحدهما عن الآخر. وتقديرًا لجهودهما سمي التوازن الجيني بتوازن هاردي - فاينبرغ (Hardy-Weinberg equilibrium) واختصاراً HWE. تبين لاحقاً أن عالم الوراثة الأميركي W. E. Castle قد وصف التوازن الجيني في عام 1903، لذا غيّر بعضهم اسم التوازن الجيني ليصبح قانون كاسل - هاردي - فاينبرغ (Castle-Hardy-Weinberg law). بحسب قانون HWE فإن تكرار الألائل في مجتمع سكاني لا تتغير مع الزمن.

يستخدم عادةً في نظام موقع واحد وأليلين الحرفان p لوصف الأليل السائد (Dominant allele) و q لوصف الأليل المتنحي (Recessive allele). هذه هي الحالة الأبسط وفيها يكون مجموع تكرار الأليلين يساوي 1.0. ويتم إنشاء جدول 2×2 لتبيان تكرار الأنماط الجينية، إذ يدل الرمز p^2 و q^2 على الأنماط الجينية متماثلة الألائل والرمز $2pq$ على النمط الجيني متخالف الألائل (جدول 15-4)

تمثل: p^2 و q^2 و $2pq$ كل الأنماط الجينية الممكنة في المجتمع، ويكون مجموعها معاً يساوي 1.0، أي: $q^2 + 2pq + p^2 = 1$. وبما أن $q^2 + 2pq + p^2 = (p+q)^2$ لذا يطلق على قانون التوازن الجيني أحياناً بالقانون التربيعي.

(جدول 15-4) اشتقاق الأنماط الجينية والتكرارات لموقع جيني وحيد بأليلين مختلفين p و q .

		Female gametes	
		$A1 (p)$	$A2 (q)$
Male gametes	$A1 (p)$	p^2	pq
	$A2 (q)$	pq	q^2

لنستعمل بمثال رقمي لإثبات توازن هاردي-فاينبرغ (جدول 15-5) لنفرض أن موضعاً (Locus) على صبغي جسدي يملك أليلين A و a . تبلغ تكرار هذين الأليلين في مجتمع سكاني: 0.70 للأليل A و 0.30 للأليل a . لدى حصول تزاوج بشكل عشوائي وبحسب معايير قانون HWE فإن الاحتمالات المتوقعة لدى شكل زيجوت هي:

- احتمال أن تلقتي النطفة الحاملة للأليل A مع البويضة الحاملة للأليل A هو: $0.7 \times 0.7 = 0.49$. وهونفسه تكرار النمط الجيني AA .
- احتمال أن تلقتي النطفة الحاملة للأليل a مع البويضة الحاملة للأليل a هو: $0.3 \times 0.3 = 0.09$. وهونفسه تكرار النمط الجيني aa .
- احتمال أن تلقتي النطفة الحاملة للأليل A مع البويضة الحاملة للأليل a هو: $0.7 \times 0.3 = 0.21$.
- احتمال أن تلقتي النطفة الحاملة للأليل a مع البويضة الحاملة للأليل A هو: $0.3 \times 0.7 = 0.21$.

ويكون تكرار النمط الجيني Aa : $0.21 + 0.21 = 0.42$.

نلاحظ أن مجموع تكرارات الأنماط الجينية يساوي 1.

(جدول 15-5) حساب تكرارات الأنماط الجينية في ذرية التزاوج عشوائي لجيل الأبناء، بناءً على معرفة مسبقة لتكرار الألائل في موضع ما على صبغي جسدي.

		Sperm	
		$fr(A) = 0.7$	$fr(a) = 0.3$
Eggs	$fr(A) = 0.7$	$fr(AA) = 0.7 \times 0.7 = 0.49$	$fr(Aa) = 0.7 \times 0.3 = 0.21$
	$fr(a) = 0.3$	$fr(aA) = 0.3 \times 0.7 = 0.21$	$fr(aa) = 0.3 \times 0.3 = 0.09$

لقد بين لنا قانون HWE ثلاث حقائق:

- ليس بالضرورة أن يزيد معدل الخِلة السائدة من جيل إلى آخر.
- إذا كان المجتمع المدروس مثالياً فإن تكرار الألائل لا تتغير.
- يمكننا حساب تكرار الأنماط الجينية الأخرى إذا عرفنا تكرار أحد الأنماط. يعد هذا الأمر مفيداً في دراسة الاعتلالات الوراثية لدى الإنسان لجهة معرفة نسبة الأفراد متخالفي الألائل لمرض وراثي متتحي.

إنه لمن الأهمية بمكان أن نحدد فيما إذا كان الموضع المدروس في المجموعة السكانية يخضع لتوازن HWE أولاً.

من بين الأمثلة الممكنة التي يمكن أن تعد نموذجية لدراسة مجموعة سكانية البروتينان M و N المنغمسان في غشاء الكريات الحمراء. يُرمز هذان البروتينان من قبل جين الغليكوفورين A (GYPA) المتوضعة على الذراع الطويل من الصبغي الرابع. الغليكوفورين A هو بروتين سكري. يمثل البروتينان M و N تنوعين له ويختلف بعضهما عن بعض بحمضين أمينيين. يمكن الكشف عن البروتينين M أو N على غشاء الكريات الحمراء أحدهما أو كليهما معاً باختبار بسيط وذلك إضافة بأضداد إلى عينة دم صغيرة. سمي موقع الجين GYPA وتم ترميز الأليلان بـ: M و N. توافق الأنماط الجينية: MM، MN، NN ثلاثة أنماط ظاهرية هي: M، MN، N. أجري مسح لـ 2320 أب وأم من 1160 عائلة مختلفة لتحديد نمط البروتينين MN الموجودين في دمائهم. أظهرت النتائج وجود البروتينات بالنسب التالية: M: 0.311، MN: 0.492، N: 0.197. وبالتالي

$$\text{فإن تكرار الأليل M هو: } \frac{1}{2}(0.492) + 0.311 = 0.577$$

$$\text{وتكرار الأليل N هو: } 1 - 0.577 = 0.443$$

وإذا ما كان المجتمع متوازناً بالنسبة لقانون HWE، عندئذ سيكون تكرار الأنماط الجينية بالنسبة للنمط MM هو: $0.310 = (0.557)^2$ ، وبالنسبة للنمط MN هو: $0.494 = 2(0.557)(0.443)$ ، وبالنسبة للنمط NN هو: $0.196 = (0.443)^2$.

تم إجراء مسح في الدراسة نفسها لـ 2734 طفلاً وتبين أن نسب توزع الأنماط الجينية هي: 0.311 للنمط MM، و 0.493 للنمط MN، و 0.195 للنمط NN، وهي النسب نفسها المشاهدة عند الآباء.

لقد استخدم نظام جين جسدية ذات موقع واحد وبأليلين لشرح قانون HWE. وعلى كل حال توجد قوانين لجينات بعدة ألائل ولألائل مرتبطة بالصبغي X ولمواقع مرتبطة بعضها مع بعض ولمواقع مستقلة.

يُرمز للألائل في حالة نظام جيني جسدي بثلاثة ألائل بـ: p و q و r. وتصبح المعادلة: $p + q + r = 1$. وللتنبؤ بتكرار الأنماط الجينية يتم تربيع المعادلة السابقة $(p+q+r)^2$ وفي حال كانت هناك أربعة ألائل تصبح المعادلة: $(p+q+r+s)^2$.

حساب تكرار عدة ألائل لموضع واحد:

لنأخذ مثال الزمر الدموية لدى الإنسان ABO (جدول 15-6) لدينا ثلاثة ألائل A و B و O . الأليلان A و B سائدان، والأليل O متنحي. الأنماط الجينية الممكنة لدى الإنسان عددها 6 والأنماط الظاهرية عددها 4:

- الأنماط الجينية AA أو AO تعطي نمطاً ظاهرياً A .
- الأنماط الجينية BB أو BO تعطي نمطاً ظاهرياً B .
- النمط الجيني AB يعطي نمطاً ظاهرياً A .
- النمط الجيني OO يعطي نمطاً ظاهرياً O .

حسب قانون HWE تكتب المعادلة لثلاثة ألائل على النحو التالي: $p + q + r = 1$.

في حال كان لدينا تكرار الأنماط الظاهرية المسجلة في مجتمع سكاني ما هو على التوالي: 0.53 للنمط A ، 0.13 للنمط B ، 0.26 للنمط O ، فما تكرار الألائل المحددة لزمر الدم؟

نُحسب تكرار الألائل الثلاثة حسب قانون HWE وفق المعادلة:

$$(p + q + r)^2 = p^2 + q^2 + r^2 + 2pq + 2pr + 2pq = 1$$

- حساب تكرار الأليل O . يرمز r^2 للزمرة الدموية O . بما أن هذه الزمرة لا تتولد إلا عن أليلين متنحيين، لذا يمكننا حساب تكرار الأليل O في المجتمع السكاني المدروس كما يلي:

$$r^2 = 0.26$$

$$r = \sqrt{0.26}$$

$$r = 0.51$$

- حساب تكرار الأليل A . الزمرة الدموية A هي تعبيرٌ لنمطين جينيين: AA و AO . يأخذ تكرار النمط الجيني AA الرمز p^2 وتكرار النمط الجيني AO الرمز $2pr$. وبجمع تكرارات الزمرتين A و O نحصل على المعادلة التالية:

$$p^2 + 2pr + r^2 = 0.53 + 0.26$$

$$(p + r)^2 = 0.79$$

$$p + r = \sqrt{0.79}$$

$$p = 0.89 - r$$

$$p = 0.89 - 0.51 = 0.38$$

- لم يبق إلا حساب تكرار الأليل B وذلك وفق المعادلة التالية:

$$p + q + r = 1$$

$$q = 1 - p - r$$

$$1 - 0.51 - 0.38 = 0.11$$

(جدول 15-6) حساب تكرار الأنماط الجينية لموضع بعدة الألائل في مجتمع سكاني حسب متثابتهات HWE . مع العلم أن تكرار الأليل A : 0.38، والأليل B : 0.11، والأليل O : 0.51.

النمط الجيني Genotype	تكرار النمط الجيني Genotype Frequency	النمط الظاهري Phenotype	تكرار النمط الظاهري Phenotype Frequency
AA	$p^2 = (0.38)^2 = 0.14$	A	0.53
AO	$2pr = 2(0.38)(0.51) = 0.39$		
BB	$q^2 = (0.11)^2 = 0.01$	B	0.12
BO	$2qr = 2(0.11)(0.51) = 0.11$		
AB	$2pr = 2(0.38)(0.11) = 0.084$	AB	0.08
OO	$r^2 = (0.51)^2 = 0.26$	O	0.26

يُستفاد من تطبيق قانون HWE في تحديد نسبة متخالفي الألائل بالنسبة لخلية متحبة في مجتمع ما. بعد مرض التليف الكيسي (Cystic fibrosis) خلّة جسيّة متحبة. تبلغ نسبة انتشاره بين سكان أوروبا الشمالية أو المنحدرين منهم 1 من كل 2500. حسب قانون هاردي-فاينبرغ، وإذا ما افترضنا أن التزاوج كان عشوائياً في الجيل السابق، يمكننا حساب نسبة متخالفي الألائل بين مجموع السكان كما يلي:

تمثل q^2 نسبة المصابين في المجتمع السكاني المدروس وهي هنا 0.0004. ومن ثم فإن تكرار الأليل المتحبي هي الجذر التربيعي للرقم المذكور أعلاه:

$$q = \sqrt{q^2} = \sqrt{0.0004} = 0.02$$

بما أن

$$p + q = 1$$

فإن

$$p = 0.98$$

أما نسبة متخالفي الألائل فهي:

$$2pq = 2 \times 0.98 \times 0.02 \approx 0.04$$

نستنتج من ذلك أن نسبة حملة مرض التليف الكيسي أعلى بكثير من المصابين إذ تبلغ 4 من أصل 100 فرد في المجتمع السكاني.

3.15. معادلة هاردي فاينبرغ بالنسبة للجينات المرتبطة بالصبغي X

تتطلب دراسة التوازن بالنسبة للجينات المرتبطة بالصبغي X متابعة على مدى عدة أجيال، على عكس الجينات الجسدية التي يكفي جيل واحد لدراستها. سبب هذا الاختلاف هو نمط انتقال الصبغي X من جيل

إلى آخر. فالأنثى يمكن أن تكون متماثلة الألائل (A_1A_1 أو A_2A_2) أو متخالفة الألائل (A_1A_2) في نظام جيني ذي أليلين. بينما الذكر قد يملك أحد الأليلين A_1 أو A_2 .

لنأخذ مثلاً عَمى لوني الأخضر والأحمر الذي يصيب 8% من الذكور. بمعنى آخر 8% من مجمل الصبغيات X يحمل الأليل الطافر، و 92% من مجمل الصبغيات X يحمل الأليل السائد الطبيعي بالنسبة لرؤية اللونين الأخضر والأحمر. إذا ما رمزنا للأليل السائد بـ: p، تكرارته تساوي 0.92، وللأليل الطافر بـ: q، تكرارته تساوي 0.08، نستطيع الاستنتاج بأن نسبة إصابة الإناث بعمى الألوان سابق الذكر هي:

$$q^2 = (0.08)^2 = 0.0064$$

وبأن تكرار حملة الأليل الطافر بين الإناث هو:

$$2pq = 2(0.92)(0.08) = 0.147$$

وبمعنى آخر تحمل 14.7% من الإناث الأليل الطافر (عمى اللونين الأخضر والأحمر)، وبإمكانهن نقله إلى أطفالهن بالرغم من عدم معاناتهن من عمى الألوان.

توجد عدة أمراض وراثية مرتبطة بالصبغي X تكون نسبة انتشارها أعلى عند الذكور منها عند الإناث مثل الخنثى العضلي من نمط دوشين (Duchenne muscular dystrophy) أو الناعور (Hemophilia).

4.15. العوامل المؤثرة في الأنماط الجينية وانتقال الألائل بين الأجيال المتعاقبة
ورد في مواضع عدة المُنْتَابِتَات أوالشروط التي التقيد بها أو أخذها بعين الاعتبار لدى تطبيق قانون التوازن الجيني (HWE). فما هذه المُنْتَابِتَات؟

1.4.15. حجم المجموعة السكانية

يؤثر انتقاء العينات في المجموعات السكانية الصغيرة في نتائج تكرار الألائل إذ تصبح مذبذبة، وتتغير من جيل إلى الذي يليه. نسمي هذه الظاهرة بالانسياب الجيني العشوائي (Random genetic drift). وهو ما لا نلاحظه في حال كان حجم المجموعة السكانية المدروسة كبيراً. يُقال عن الجين إذا ما فقدت أليلاً ما بعد عدة أجيال أي p أو q يصبح مساوياً 1 أنها أصبحت ثابتة وراثياً (Genetically fixed).

2.4.15. تأثير الأصل

حين يوجد في مجموعة سكانية صغيرة أليل متنحي ونادر فإنه قد يبقى ضمن هذه المجموعة لأجيال متعاقبة إذا ما بقيت هذه المجموعة معزولة جغرافياً أو اجتماعياً عن بقية المجموعات المجاورة. وهو ما يُطلق عليه تأثير الأصل (Founder Effect). قد تظهر حالات من الأمراض المتنحية النادرة جداً في

هذه المجموعة مقارنةً ببقية المجموعات. مثال: عاشت مجموعة صغيرة في عام 1675 مكونة من 600 فرداً في الشمال الشرقي لمقاطعة كيبيك (Quebec) في كندا بشكلٍ معزولٍ عن بقية السكان. بقيت هذه المجموعة بعد 12 جيل معزولة إلى حدٍ ما، وأصبح تعداد أفرادها 310000. لوحظ لدى أفراد هذه المجموعة ارتفاع نسبة الأمراض المتتحة النادرة جداً مقارنةً ببقية السكان. وزادت أيضاً نسبة الأفراد متخالفي الألائل لهذه الأمراض بمعدل 5% إلى 40% مقارنةً ببقية السكان. نذكر من هذه الأمراض: الداء السيستيني (Cystinosis)، عوز إنزيم الستوكروم أوكسيداز (Cytochrome coxidase deficiency)، عوز إنزيم الليبوبروتين ليباز (Lipoprotein lipase deficiency)، فرط تيروزين الدم من النمط الأول (Tyrosinemia type I).

3.4.15. الهجرة

تغير الهجرة من التراكيب الجينية للسكان، فالمجموعات البشرية نادراً ما تكون معزولة في مكان ما لا تهاجر ولا تستقبل أحداً. يُدعى إدخال تراكيب جينية جديدة في مجموعة بشرية مُستقبلة أنسياب الجينات (Gene flow). يعتمد انسياب الجينات على حجم المجموعة السكانية المُستقبلة، وعلى معدل تولد المهاجرين داخل هذه المجموعة. يمكن أن يُدخل انسياب الجينات أليلاً جديداً، أو يغير من تماثل الألائل في المجموعة السكانية المُستقبلة. وقد لا يحدث تغير إذا ما كان تكرار الألائل في المجموعتين السكائيتين هو نفسه.

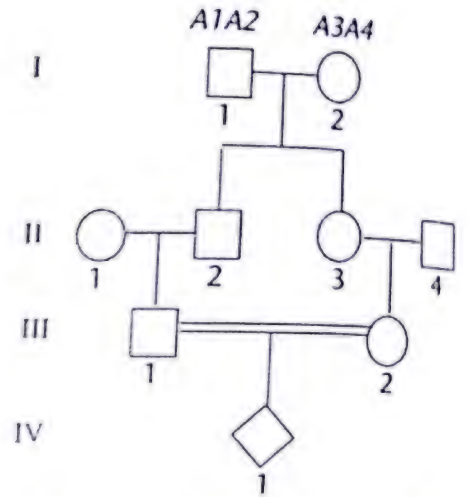
4.4.15. التزاوج (Mating):

للزواج أنواع عدة: فإما أن يحدث بشكلٍ عشوائي بين الذكور والإناث ويسمى بالتزاوج اللامُتلائق (Nonassortative mating). وإما أن يختار الأفراد أزواجهم بناءً على صفاتٍ أو ملامح معينة أو لوجود قرى بينهم، ويسمى التزاوج اللاعشوائي (Nonrandom mating) أو التزاوج المُتلائق (Assortative mating). يقسم التزاوج المُتلائق إلى نوعين: تزاوج مُتلائق إيجابي أي متماثل يكون فيه الأفراد المتزوجون متماثلي النمط الوراثي. وتزاوج مُتلائق سلبي أي متغاير وهنا يتم اختيار الأزواج بالاعتماد على أنماطٍ وراثية متضادة. يؤدي التزاوج المُتلائق السلبي لظهور جيلٍ متخالف الألائل، وتناقص معدل الأفراد متماثلي الألائل.

- زواج الأقارب (Inbreeding):

عندما نتكلم عن زواج الأقارب نقصد الزواج ما بين أولاد العم أو الخال أو الخالة أو العمّة، على اعتبار أن الزواج بين الأصول والفروع أو بين الأخوة محرّم في الشرائع السماوية وغير قانوني في معظم البلدان. يسمى زواج الأقارب من الدرجة الأولى عندما يكون أحد الوالدين لكلا الفردين المقترنين أماً أو أختاً

لآخر، وهنا يتشارك الفردان المقترنان بالجد. قد يؤدي التشارك بجدٍ إلى ظهور حالة تماثل الألائل عند الحفيد (شكل 15-6). يَنْقُصُ احتمال تماثل الألائل كلما ابتعد الأفراد المقترنون عن جدهم المشترك. وبعد زواج الأقارب دون تأثير يذكر على النمط الجيني وتماثل الألائل إذا ما كان الفارق بين الأفراد وجدهم المشترك أربعة أجيال فأكثر.



(شكل 15-6) يملك الجدّان في الجيل I نظرياً 4 الألائل جسدية مختلفة لموضع واحد. يمكن أن يحمل الولد IV-1 أحد الأنماط الجينية التالية: A_1A_1 , A_1A_2 , A_2A_1 , A_2A_2 . إن احتمال انتقال الأليل A_1 من الجد إلى الابن II-2 هو $\frac{1}{2}$ ، واحتمال انتقال الأليل A_1 من

الابن II-2 إلى الحفيد III-1 هو $\frac{1}{2}$ ، واحتمال انتقال الأليل A_1 من الحفيد III-1 إلى الولد IV-1 هو $\frac{1}{2}$. كذلك الأمر بالنسبة لانتقال الأليل نفسه من الجد I-1 إلى الابنة II-3 وصولاً إلى الولد IV-1 هو $\frac{1}{2}$ لكل مرحلة. ومن ثم احتمال أن يرث الولد IV-1 الأليلين A_1A_1 من جده I-1 هو $(\frac{1}{2})^6$. يتم حساب احتمال وراثة الألائل الأخرى بنفس الطريقة. أما احتمال أن يرث الولد IV-1 الألائل الأربعة من الجدّين I-1 و I-2 هو: $4 \times (\frac{1}{2})^6 = 0.0625$. إذا كان الأفراد المتزوجون أبناء عم من الدرجة الثالثة يصبح احتمال انتقال أليلين من أحد الجدّين المشتركين إلى ابنهم هو $(\frac{1}{2})^{10}$.

فيما يتعلق بوراثة الألائل المتوضعة على الصبغي X من الجد المشترك. لدينا هنا احتمالات عدة:

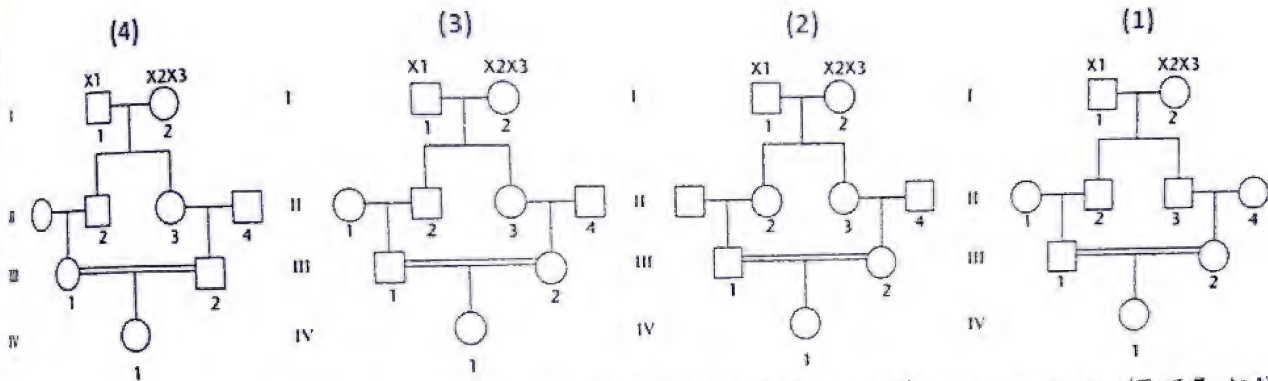
- الأولاد المقترنون هم أبناء عم (شكل 15-7) (1): في هذه الحالة الجد لا يورث أي خلية مرتبطة بالصبغي X. ترث فقط ابنة العم أليلاً واحداً من جدتها. ومن ثم احتمال تماثل الألائل عند الطفل المولود IV-1 غير ممكن.

- الأفراد المقترنون هم أبناء خالة (شكل 15-7) (2): في هذه الحالة يمكن للطفل المولود IV-1 أن يكون متماثل الألائل بالنسبة لأي أليل متوضع على الصبغي X1 أو X2 أو X3. احتمال انتقال الأليل المتوضع على الصبغي X1 هو I من الجد I-1 إلى ابنته II-1 و II-2، ومن البنّتين إلى الابن III-1 والابنة III-2 (الزوجين) هو I و $\frac{1}{2}$ بالترتيب، ومن الزوجين إلى ابنتهما IV-1 هو I و $\frac{1}{2}$. ومن ثم يصبح احتمال أن تكون البنت المولودة IV-1 متماثلة الألائل المتوضعة على الصبغي X1 هو: $(\frac{1}{2})(\frac{1}{2})(1)(1)(\frac{1}{2})(\frac{1}{2})$. بالطريقة نفسها يمكن استنتاج احتمال

أن تكون البنت المولودة IV-1 متماثلة الألائل المتوضعة على الصبغيات X2 و X3 في الجدة 1-2 لنجد أنها تساوي: $(\frac{1}{2})(\frac{1}{2})(1)(\frac{1}{2})(\frac{1}{2})(\frac{1}{2})$.

- إذا تزوجت ابنة العمة من ابن الخال (شكل 7-15) (3): لا يمكن للطفل IV-1 أن يكون متماثل الألائل لأي من الألائل المتوضعة على الصبغيات X الثلاثة.

- إذا تزوج ابن العمة من ابنة الخال (شكل 7-15) (4): لا يمكن للطفل IV-1 أن يكون متماثل الألائل لأي من الألائل المتوضعة على الصبغي X1، ولكن يمكن أن يكون متماثل الألائل المتوضعة على الصبغيتين X2 و X3.



(شكل 7-15): احتمالات تماثل الألائل لدى أولاد زواج قرابة أولى. تتوضع الألائل على الصبغي X وهي ثلاثة لدى الأجداد: X1X2 و X3.

نستنتج مما سبق أن زواج الأقارب يزيد من تماثل الألائل ويقلل من تغيرها. وإذا ما استمر زواج الأقارب جيلاً بعد جيل فستقترب المجموعة السكانية في النهاية إلى تماثل في الألائل بنسبة 100%.
يكثر زواج الأقارب من الدرجة الأولى في البلاد العربية وفي بلدان أخرى مثل الباكستان، بينما يشكل ما نسبته 0.4% و 0.1% من جميع حالات التزاوج في اليابان والولايات المتحدة الأمريكية بالترتيب نفسه. يزيد زواج الأقارب من معدل الإصابة بأمراض وراثية مقارنةً بمجموعات سكانية أخرى لا يكثر فيها زواج الأقارب. لا نخفي هنا استفادة الباحثين من زواج الأقارب في تحديد مواضع الجينات المسؤولة عن الأمراض الوراثية المتنحية النادرة منها خصوصاً، وفي رسم الخرائط الوراثية.

الفصل السادس عشر

وراثيات الأمراض الشائعة

Genetics of Common diseases

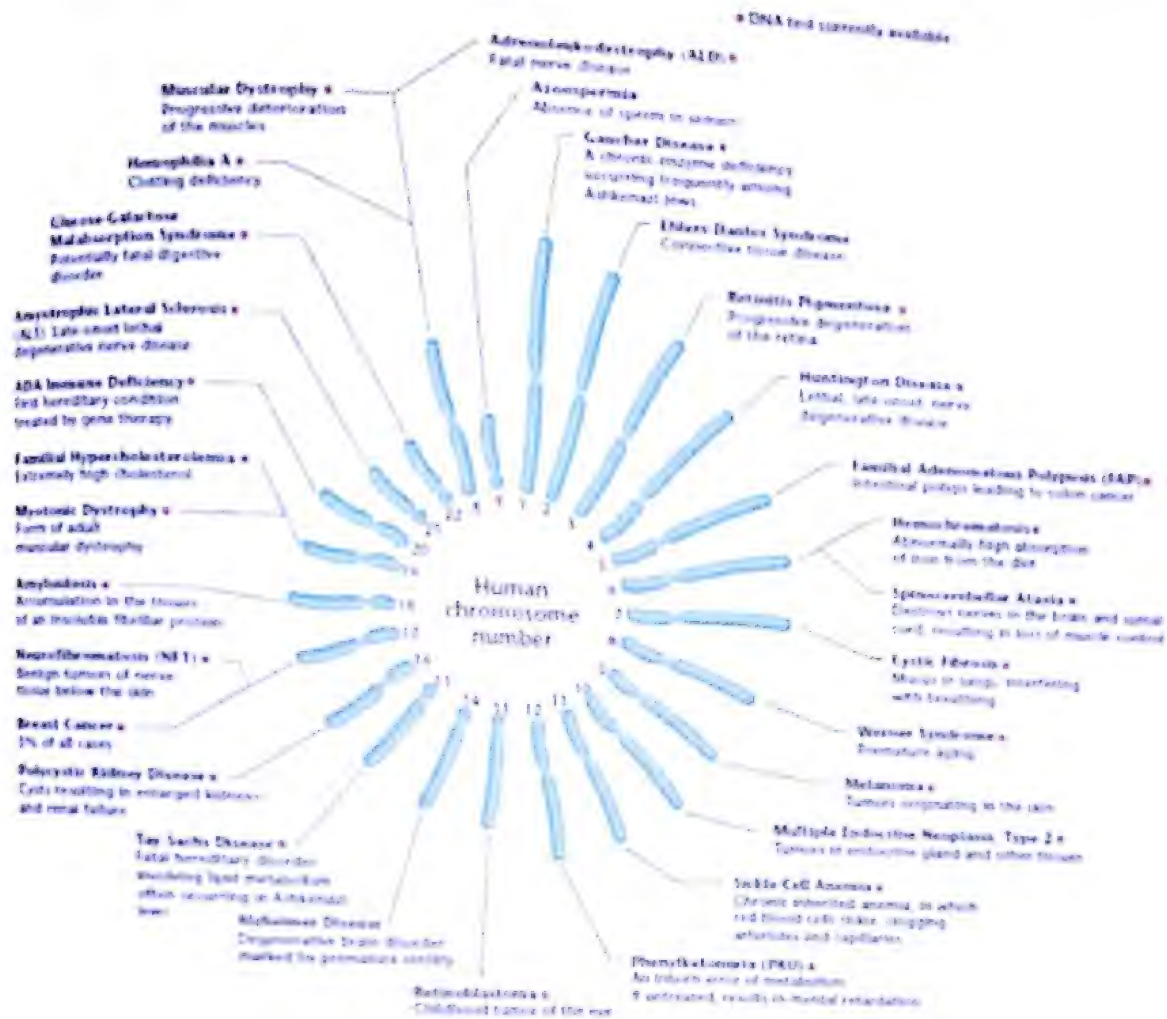
المحتويات Contents

- | | |
|--|---|
| 1.16. الودانة | 28.16. داء الناعور B |
| 2.16. المبق الجليدي العيني | 29.16. التنكس العدسي - الكبدي (داء ويلسون) |
| 3.16. الكحولية | 30.16. فرط ضغط الدم |
| 4.16. داء الزهايمر | 31.16. فرط الحرارة التخديرية (فرط الحرارة الخبيث) |
| 5.16. متلازمة عدم التحسس للأندروجين | 32.16. الداء المعوي الالتهابي |
| 6.16. أمهات الدم الأبهرية البطنية | 33.16. اعتلال العصب البصري الولادي ل (ليبر) |
| 7.16. التهاب الفقار اللاصق | 34.16. الحثل العضلي المرتبط بالصبغي X |
| 8.16. التصلب العصيدي | 35.16. الحثل العضلي التوتري |
| 9.16. أهبة التأتب | 36.16. الاكتئاب الهوسي (الاضطراب الفاعل مزدوج القطب) |
| 10.16. اضطراب فرط النشاط مع عيب الانتباه | 37.16. داء العصيون الحركي |
| 11.16. التهاب الكبد المناعي الذاتي | 38.16. التصلب المتعدد |
| 12.16. التوحد | 39.16. التحصي الكلوي (المرتبط بالصبغي-X) |
| 13.16. الثلاسيميا بيتا | 40.16. التغفيق (النوم الانتباي) |
| 14.16. عمى الألوان | 41.16. داء باركنسون |
| 15.16. فرط تنسج الكظر الولادي (نقص 21-هيدروكسيلاز) | 42.16. بيلة الغينيل كيتون |
| 16.16. داء تكور الكريات الخلقي | 43.16. مقدمة الارتعاج/الارتعاج (فرط ضغط الدم المحرض بالحمل) |
| 17.16. الداء الليفي الكيسي | 44.16. الصدفية |
| 18.16. الداء السكري المعتمد على الأنسولين | 45.16. التهاب الشبكية الصباغي |
| 19.16. الداء السكري غير المعتمد على الأنسولين | 46.16. التهاب المفاصل الرثياني |
| 20.16. الصرع | 47.16. الفصام |
| 21.16. الزرق | 48.16. فقر الدم المنجلي |
| 22.16. انحلال البشرة الفقاعي | 49.16. عجز القراءة النوعي |
| 23.16. متلازمة الصبغي X الهش | 50.16. الضمور العضلي الشوكي نمط 1 (داء فيردنغ - هوفمان) |
| 24.16. نقص إنزيم الغلوكوز 6 فسفات ديهيدروجيناز | 51.16. الذئبة الحمامية الجهازية |
| 25.16. اعتلال الأمعاء للغلوتين (الداء الزلاقي) | 52.16. داء فون ويلبيراند |
| 26.16. داء الصباغ الدموي | |
| 27.16. داء الناعور A | |

لظهرت الدراسات على التوائم Concordance عند التوائم، وكذلك دراسة الارتباط العائلي، الكثير من الأمراض الشائعة متعددة العوامل الوراثية، إذ يذهب جين أو عدة جينات الأفراد إلى تأثير عوامل بيئية معينة، ومن المحتمل أيضاً أن تتشارك الجينات في إحداث الاختلافات التي تظهر بين المرضى لمصابين بمرض خاص من ناحية الإنذار، وتزداد ونمط المضاعفات، والاستجابة للمعالجات المختلفة. ومن ثم ففي محاولة منا للإجابة عن أسئلة مثل: لماذا يعاني المريض هذا المرض في مثل هذا الوقت؟ وما هو الإنذار؟، نجد أنه لا يمكن التغاضي عن العوامل الوراثية أو تجاهلها.

وبالرغم من أن الدراسات العائلية، ودراسات التوائم يمكنها أن تثبت الإسهام الوراثي بالنسبة للاستعداد للإصابة، لا تتعرف على عدد أو طبيعة الجينات المسؤولة. ولكن حدث تقدم في هذا المجال باستعمال دراسات الترابط السكانية Population association studies، وتحاليل ثنائيات الأشقاء Sib pair Studies، وتحاليل الارتباط Linkage studies، وتحاليل الطفرات في الجينات المعنية. حتى الوقت الحاضر، تعد الوسيلة الأكثر استعمالاً هي دراسات الترابط السكانية، التي يقارن فيها تعدد أشكال الجينات موضع الاهتمام الأشخاص المصابين مع غير المصابين.

على سبيل المثال، يكون لدى 95% من مرضى السكري المعتمدين على الأنسولين، الألائل $DR3$ أو $DR4$ MHC، في حين يكون التواتر المشترك 50% لدى الأفراد غير المصابين. يعتقد أن هذا النموذج، وأيضاً في تراكبات أخرى من نفس الطبيعة، تعكس ارتباطاً غير متوازن بين موضع الاستعداد للإصابة بالمرض والموضع ذي الصلة عند المصاب. تقارن تحاليل تردد تعدد الأشكال بين المصابين من ثنائيات الأشقاء. يوجد احتمال واحد في كل اثنين، وهو أن يستقبل كل شقيق أليلاً واحداً من الموضع من كل والد، ومن ثم فإن وجود المرض يمكن مقارنته بنسبة التردد التي يأخذ فيها الشقيق أحد الأليلين (المتوقع هو 50%). أو ألا يأخذ كلا الأليلين (المتوقع 25%). أو يستقبل كلا الأليلين (المتوقع 25%) من الموضع الذي يُدرس. يمكن أيضاً استعمال تحاليل الارتباط الروتينية، وذلك باستعمال التسميات متعددة الأشكال، إذا كانت الخلة متفاصلة (Discontinuous) إذا أشارت أي واحدة من تلك المقاربات إلى جين معين، عندها يمكن اختيار هذا الجين بالطرق الطفوية (Mutational method) في الأفراد المصابين. يحتاج الأمر إلى أبحاث أخرى لتعيين كل المواضع المشاركة لكل حالة، ولاكتشاف ما إذا كانت هذه المواضع المشاركة موجودة في العائلات المختلفة (التغاير الوراثي: Genetic heterogeneity)، وحتى يتم التفاعل بين النمط الجيني والعوامل البيئية في إنتاج النمط الظاهري النهائي. تم ترتيب الأمراض التي تتناقش في هذا الفصل حسب ترتيب الحروف الأبجدية الإنجليزية. وقبل أن نشرع بتعداد بعض الأمراض الوراثية نبين في الشكل التالي توزيع جينات أهم تلك الأمراض الوراثية لدى البشر في النمط الفردي البشري.

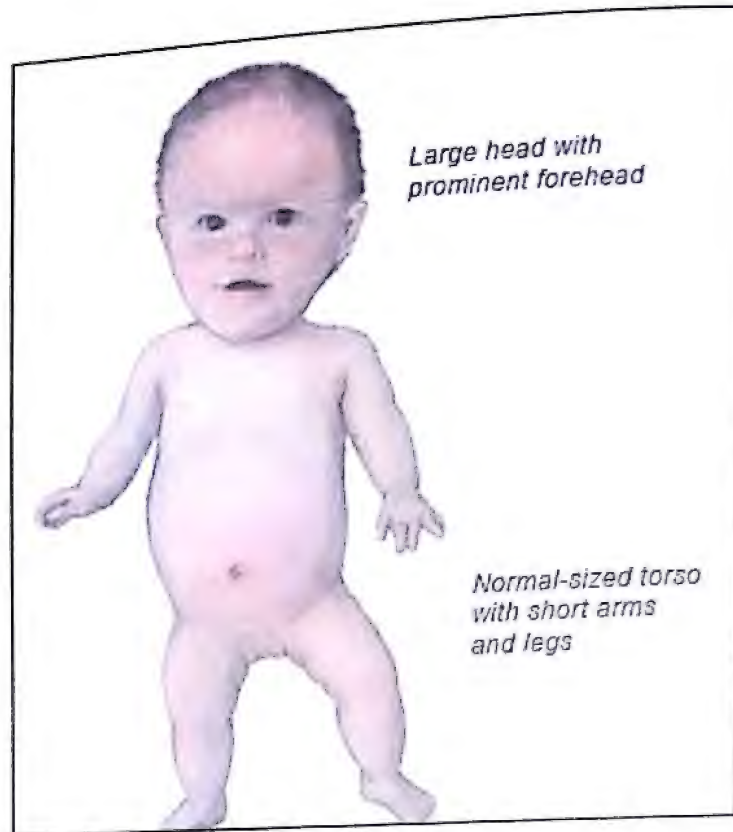


1.16. الودانة (Achondroplasia):

تُشخص بوجود قصر في الأطراف خاصة الدانية Rhizomelia. ويكون الجذع سوي الطول مع قُصّ قطني Lumbar lordosis، ويوجد بروز جبهي مع انخفاض الجسر الأنفي، ويد ثلاثية الشعب Trident hand. مع تضيق المسافة ما بين السويقات Interpedicular القطنية في الصورة الشعاعية (الشكل 1-16).

يكون متوسط الطول 123 سم. ويكون معدل الذكاء ومعدل البقاء في المجال السوي. الألم الظهري شائع، وهناك خطورة لانضغاط الفقرات في فترة من فترات الحياة بنسبة 5-10% (الشكل 16-2).

تحدث هذه الحالة بسبب خلّة جسدية سائدة، نتجت من طفرة نقطية خاصة (G380R)، (في عامل نمو الأرومة الليفية) Fibroblast growth factor 3 (FGF3). تُظهر هذه الخلّة نفاذاً كاملاً (Full penetrance)، مع اختلاف قليل في مدى التعبير عن المرض Expressivity (وهذا الأخير قد يشير إلى ثباتية الأمراض الجينية). تردد هذه الحالة (1) في كل (15-77 ألف) ولادة حية في مختلف المسوح الوبائية، مع العلم أن 80-90% من المرضى تحدث الطفرة لديهم بشكل جديد.



(الشكل 1-16): الودانة Achondroplasia.



(الشكل 16-2): الودانة Achondroplasia.

2.16. المهق الجلدي العيني (Occulo-Cutaneous Albinism):

يتصف بوجود جلد أحمر قرمزي، لا يتأثر بأشعة الشمس، شعر أبيض، وقزحية زرقاء أو قرنفلية Pink، ومنعكس واضح للون الأحمر. استجابة شاذة للإبصار بسبب خطأ في مسار ألياف الأعصاب البصرية. يوجد غياب إنزيم التيروسيناز في جذور الشعر في غالبية المرضى المصابين بالنمط الأول 90%-95% (الشكل 3-16) و(الشكل 4-16).



(الشكل 3-16): المهق الجلدي العيني Occulo-Cutaneous Albinism.



(الشكل 4-16): المهق الجلدي العيني Occulo-Cutaneous Albinism.

يحدث تعدّد في النمط الظاهري، اعتماداً على نشاط أو فاعلية البروتين الشمالي Residual protein. يوجد نقص في حدّة البصر غير مترقية. كما توجد زيادة خطورة الإصابة بسرطانة الخلية القاعدية (Basal cell carcinoma) وكذلك الورم الميلانيني (Melanoma).

يورث النمط الأول من المهق الجلدي العيني كخلة جسدية متنحية وتنتج بسبب الكثير من الطفرات في جين إنزيم التيروسيناز (Tyrosinase: *TYR*). يمكن تعيين الحاملين ضمن العائلة المصابة، عن طريق تحليل الدنا. وقد وصف التشخيص قبل الولادة عن طريق أخذ خزعات من جلد الجنين، وفحصها بالمجهر الإلكتروني (ويمكن أيضاً عن طريق تحليل الدنا). إن نسبة التواتر للإصابة بالمهق من النمط الأول المتشابه في الكثير من مختلف السكان، وتقدر بنحو واحد لكل 40 ألفاً، يورث النمط الثاني من المهق الجلدي العيني أيضاً كخلة متنحية جسدية، وتنتج عن الكثير من الطفرات في الجين (*A*) تكون نسبة تواتر هذا النمط نحو واحد لكل 40 ألفاً من القوقازيين، ولكن تكون النسبة أكثر بكثير في سكان المناطق القريبة من مدار الاستواء. (على سبيل المثال واحد لكل 1400 في تنزانيا، ويحدث في تلك الحالات طفرات لجزيء من الدنا طوله (2.7 kb في 80-75% من المصابين)، أما في هنود الهوبي (Hopi Indians) فالنسبة هي واحد لكل 227.

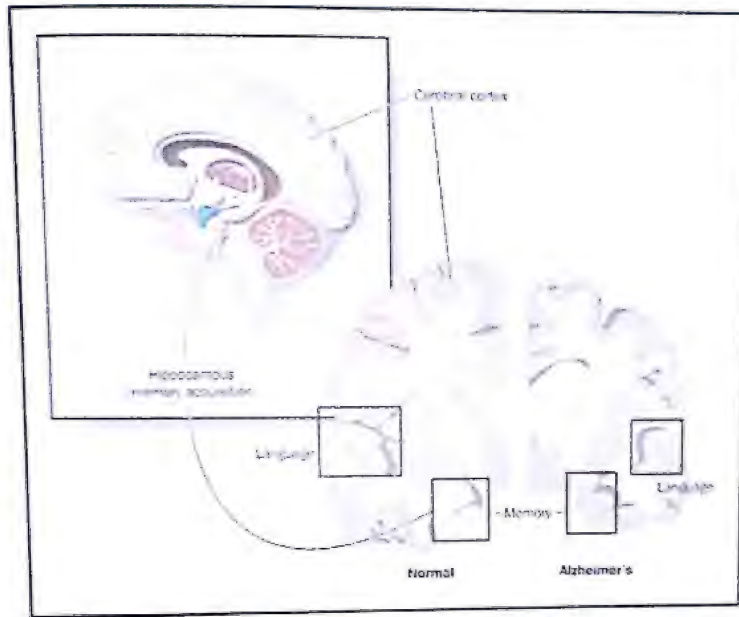
3.16. الكحولية (Alcoholism):

تحدث معاقرة الكحول، أو الاعتماد عليه في 19% من الرجال، ونحو 4% من النساء، وقد وجدت مشاركة وراثية عن طريق دراسات التبني، والتوائم، وأنصاف الأشقاء (Half-sib). المعروف عن طبيعة المشاركة الوراثية قليل نسبياً، ولكن يشتبه في وجود نوع من التغاير الوراثي في كل من الاستعداد نحو السلوك الشاذ لمعاقرة الكحول، وكذلك بالنسبة للأذية التي تحدث بسبب هذه المعاقرة. ينقص لدى نحو 5% من الشرقيين نشاط إنزيم الأدهيد ديهيدروجيناز في المتقدرات. يؤدي هذا النقص إلى بَيَغ (Flushing) كره عند تناول الكحول. هؤلاء الأشخاص أقل استعداداً لمعاقرة الكحول ممن لديهم فعالية سوية لهذا الإنزيم.

4.16. داء الزهايمر (Alzheimer Disease):

هذا المرض شائع، ويتميز بنوع مترق من الخرف، مع وجود إمراضية عصبية مميزة. احتمال خطورة الإصابة هي 5-10% أثناء حياة الفرد، في عائلة تتميز بقصة مرضية لوراثة جسدية سائدة في 10% من المرضى. داء الزهايمر العائلي ينزع إلى أن يكون البدء فيه مبكراً (أقل من 60 سنة)، وأكثر الأسباب شيوعاً لحدوثه (75%) هي حدوث طفرات في البريسينيلين 1 (PS1 Presenelin). تحدث هذه الطفرات في مواضع أخرى لدى بعض العائلات الأخرى، مثل بريسينيلين 2، وطليلة النشواني Amyloid Precursor (الشكل 5-16).

يترافق داء الزهايمر المتأخر البدء، مع ظهور أنماط جينية خاصة (صميم البروتين E (apoE) Apoprotein E). لقد وجد أليل صميم البروتين E4 في 64% من المرضى، بالمقارنة مع 31% فقط في عامة السكان (الخطورة النسبية 4). يظهر هذا الصميم ApoE 4 أيضاً علاقة كمية (Dosage effect) مع العمر، حيث يبدأ المرض باكراً من عمر المريض إذا كان متمائلاً الزيغوت بالنسبة لـ (ApoE 4) (أقل من 70 سنة). ويكون مسار المرض أكثر سرعة من الأنماط الجينية الأخرى (متوسط العمر عند بدء المرض في الأنماط الأخرى ApoE 2/3 تكون أكبر من 90 سنة).



(الشكل 16-5): داء الزهايمر Alzheimer Disease.

5.16. متلازمة عدم التحسس للأندروجين (Androgen Insensitivity Syndrome)

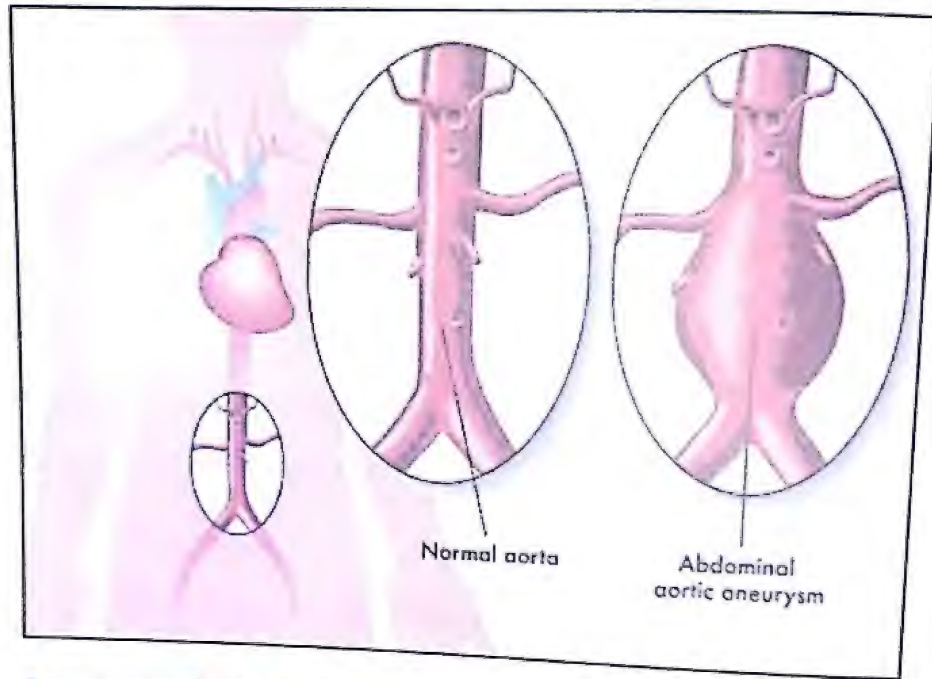
متلازمة التأنث الخصوية (Testicular Feminization Syndrome):

يكون النمط الظاهري أنثوياً، مع وجود نمو سوي للثديين، ولكن يوجد انقطاع طمث (Amenorrhea) أولي، وندرة في الأشعار عند العانة وبقية أجزاء الجسم، جراب مهبل أعور (Blind Vaginal Pouch)، وتوجد الخصيتان (Testicles) داخل البطن، والنمط الصبغي النووي (XY, 46). يحدث فنق مغبني 50%، وأورام في الغدد التناسلية في حال عدم استئصالها 5-20%، وعقم 100%. ولكن معدل الذكاء والبقيا ضمن الحدود السوية.

تورث هذه المتلازمة بخلة متتحة مرتبطة بالصبغي X، تنتج بسبب طفرات مختلفة في جين مستقبلات الأندروجين (AR)، مما يؤدي إلى تعارض الارتباط بالستوستيرون، ومن ثم إبطال مفعوله، وكذلك مفعول دي هيدروستوستيرون. يمكن الكشف عن عامل الجين بواسطة تحاليل الدنا. ويكون تواتر هذه الحالة واحداً لكل 62 ألف ذكر.

6.16. أمهات الدم الأبهرية البطنية (Aneurysm of Abdominal Aorta):

تحدث أمهات الدم الأبهرية البطنية بشكل أكثر شيوعاً فيمن تعدت أعمارهم 55 سنة، وهي أكثر شيوعاً عند الذكور من الإناث، وخطورة حدوثها في الأشقاء أثناء حياتهم تزداد إلى 60% إذا ما قورنت بالخطورة من عامة السكان، تصل إلى 15%، ويمكن استخدام التصوير بفائق الصوت للتقصي الروتيني من أجل كشف هذه الحالات قبل ظهور الأعراض (الشكل 16-6).

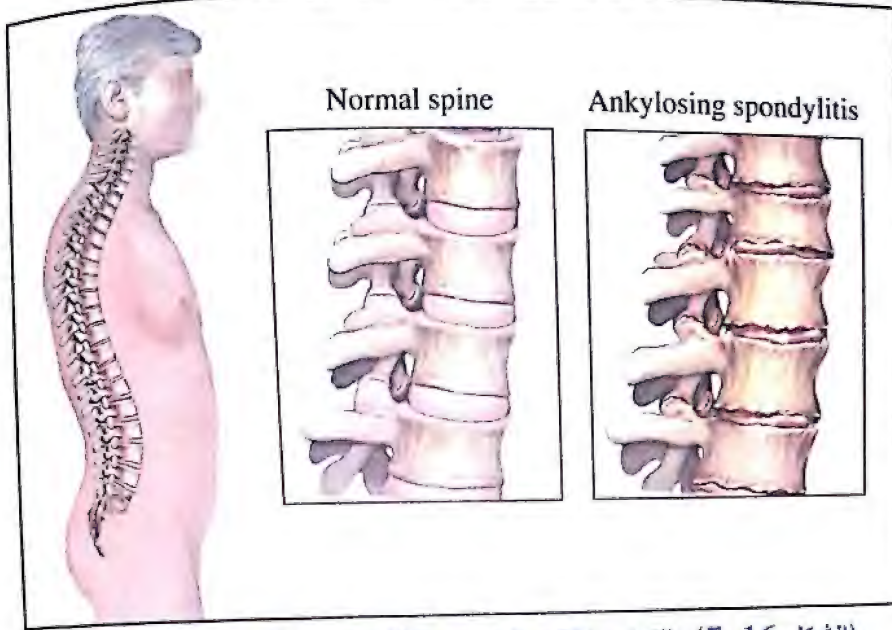


(الشكل 16-6): أمهات الدم الأبهرية البطنية Aneurysm of Abdominal Aorta.

7.16. التهاب الفقار اللاصق (Ankylosing Spondylitis):

يمكن أن يحدث التهاب الفقار اللاصق بشكل معزول، أو كاختلاط لداء الأمعاء الالتهابي، والحصيلة العامة للإصابة من الرجال هي اثنان لكل ألف رجل، و 0.2 لكل ألف امرأة، تكون لديهم أعراض. وسواء كان المرض معزولاً أو ثانوياً فإن 77-95% من المصابين يكون لديهم النمط النسيجي HLA-B 27، بالمقارنة مع 7% فقط في عموم السكان. وبالرغم من ذلك، فليس كل من لديه هذا الأليل يصاب بالمرض، كما إن طبيعة العوامل البيئية، وكذلك العوامل الوراثية المشاركة، وآلية تفاعلها مع بعضها غير معروفة (الشكل 16-7).

بالنسبة لأشقاء المريض الذي يمتلك النمط النسيجي HLA-B 27، تكون خطورة الإصابة بالتهاب الفقار اللاصق 9% وكذلك إذا كان النمط النسيجي لديهم HLA-B 27، في حين تكون الخطورة أقل من 1% لدى الأشقاء الذين لا يملكون هذا الأليل. تصل خطورة الإصابة بالتهاب الفقار اللاصق 2% عند الأفراد الذين يملكون النمط النسيجي HLA-B27، إذا لم يكن لديهم أقارب مصابون.

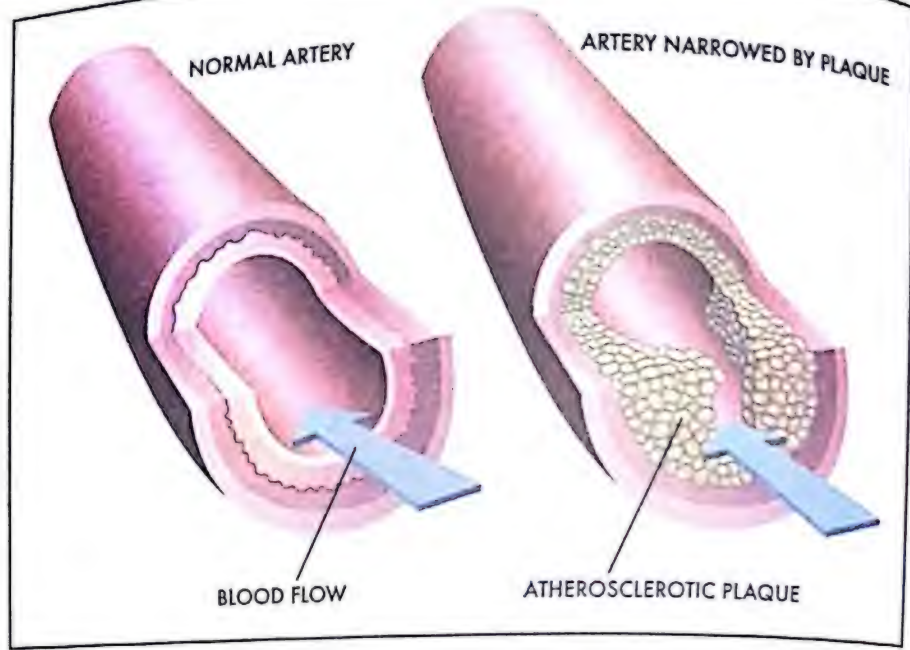


(الشكل 16-7): التهاب الفقار اللاصق Ankylosing Spondylitis.

8.16. التصلب العصيدي (Atherosclerosis):

إن التصلب العصيدي للشرايين التاجية هو أشيع سبب للموت عند البالغين. ويصاب واحد من كل 60 من الذكور عند وصوله إلى سن الخامسة والخمسين، وواحد من كل تسعين امرأة بمظاهر داء القلب الإقفاري، وتزداد نسبة الشروع بسرعة بعد هذه السن. وبشكل عام تكون نصف الوفيات في البالغين بسبب داء القلب الإقفاري في أوروبا وأمريكا واليابان (الشكل 16-8).

إن الأمراض متغايرة، ولكن عوامل الخطورة التي لا نقاش حولها تشمل التدخين، وصيغة شاذة لشحوم الدم (وحيد الوراثة أو متعدد العوامل أويثي)، وفرط ضغط الدم، والداء السكري، وقصة عائلية، ووجود قصة عائلية لحدوث الداء القلبي الإقفاري المبكر (أقل من عمر 55 سنة). بشكل عام، في حالات الداء القلبي الإقفاري المبكر، يوجد لدى ثلث الحالات صيغة شحمية دموية شاذة، ويكون نصف هؤلاء من مصدر وراثي وحيد الجين (Monogenic). إذا استثنينا مرض ارتفاع شحوم الدم ذا المصدر الوراثي الوحيد، فإن الخطورة الكلية لحدوث داء القلب الإقفاري تكون مضاعفة في الأقارب الذكور من الدرجة الأولى. ويتراوح التوافق (Concordance) بين التوائم المتماثلة (Identical) من 14-90%، وتكون أعلى النسب عند الذكور بالنسبة للداء المبكر.



(الشكل 16-8): التصلب العصيدي Atherosclerosis.

من أسباب فرط شحوم الدم أحادية الوراثة، وفرط كوليسترول الدم العائلي (P141): ارتفاع في مستويات Lp(a) لدى 20% من السكان، ويعتبر مسؤولاً عن 28% من أمراض القلب التاجية المبكرة. تكون مستويات Lp(a) ثابتة بالنسبة للفرد، وتحدد وراثياً كخلة جسدية سائدة. يرتبط التغير مع عدد (بين 15-40) من تكرارات شبه طليعة البلازمينوجين (Plasminagen-like repeats) في الجين المسؤول عن صميم البروتين الشحمي (Apolipoprotein-(a)) (العدد القليل من هذه التكرارات يترافق مع مستوى منخفض من Lp(a) والعكس صحيح).

يحدث فرط شحوم الدم العائلي المشترك المميز بزيادة في مستويات الكوليسترول، والجليسيريدات الثلاثية في 0.5-2% من مجموع السكان، وهو مسؤول عن 10% من الداء القلبي التاجي المبكر. تظهر هذه الحالة وراثية سائدة جسمية، ولها ارتباط مع تجمع جينات صميم البروتين الشحمي على الذراع الطويل للصبغي 11(11q).

أوضحت دراسات الترافق (Association analysis) دوراً لجين الإنزيم القالب للأنجيوتنسين (Angiotensin Converting Enzyme; ACE) في حدوث احتشاء القلب.

9.16. أهبة التأتب (Atopic Diathesis):

يشير الأفراد الذين يعانون ظاهرة التأتب بنزعة نحو استجابة قوية ومتطاوله من إنتاج IgE كرد فعل لكميات ضئيلة من المستضدات. واحد من كل أربعة أفراد من عامة السكان لديه مثل هذه الاستجابة، وقد لا يكون لديهم أعراض أو ربما يحدث لديهم التهاب أنف أرجي (1 من كل 5 من السكان)، أو أكزيمة

تأثبية (1 من 25 من السكان)، أو ربو قصبي من منشأ خارجي (1 من كل 25 من السكان)، أو أي تشارك من هذه الحالات.

تورث غالباً الأهبة نحو التأتب كخلة سائدة جسدية، مع نفاذ غير كامل، كما تشير إلى ذلك وجود الأعراض. تبين تحاليل الارتباط في هذه العائلات أن موضع التأتب (Locus for atopy) يقع على الذراع الطويل للصبغي 11 (11q)، ويبدو أن البصمة الوراثية (Genomic imprinting) مكثفة من ارتفاع نسبة خطورة حدوث التأتب عند الأطفال الذين تعاني أمهاتهم من التأتب، أكثر من الأطفال الذين يعاني أبائهم التأتب في هذه العائلات.

10.16. اضطراب فرط النشاط مع عيب الانتباه

(Attention Deficit Hyperactivity Disorder):

تصيب هذه الحالة نسبة واحد إلى عشرة من السكان وتظهر زيادة التوأم في التوائم أحادية الزيجوت. ويحتمل أن تكون ثانوية لمتلازمة الصبغي X الهش، أو حالات بيلة الفينيل كيتون غير المعالجة، أو قد تكون هذه الحالات غير مفسرة. تزداد الخطورة عند الأقارب من الدرجة الأولى، وقد تصل من الشيع إلى 30% بين الأشقاء.

11.16. التهاب الكبد المناعي الذاتي (Auto-Immune Hepatitis):

يترافق التهاب الكبد المناعي الذاتي مع النمط النسيجي HLA B 8 و DR3 في مركب التوافق النسيجي. أظهرت دراسات تسلسل الدنا شكلاً خاصاً للأحماض الأمينية (LLEQKR)، في الموضع 67-72 DRB، في 94% من المرضى (الخطورة النسبية 9 أضعاف). يقع هذا الموضع في الأخدود الرابط للبيتيد (Peptide binding groove) الخاص بـ DR، ويمكن له أن يتفاعل مع الببتيد الرابط، ومع مستقبل الخلية التائية، ويعتقد أن الشكل المغاير يؤهب للمرض عن طريق استجابة شاذة لمستضد خارجي.

12.16. التوحد (Autism):

تصيب حالات التوحد واحد من كل 500-2000 فرد، وتتميز بالبداية في الطفولة، بخلل في التطور الاجتماعي، واللغوي، والاستعراف، ونماذج نمطية للاهتمامات والنشاطات. يترافق مع هذه المظاهر إعاقة عقلية عند 75% من المصابين، ويحدث الصرع عند 30% يتراوح التوأم عند التوائم الأحادية بين 40-90% ويمكن أن تزداد إذا أخذ في الحسبان درجة أقل حدة من الخلل المعرفي. يجب استبعاد الإصابة بمتلازمة الصبغي X الهش، وكذلك التصلب الحدبي (Tuberous sclerosis). وتكون خطورة الرجعة الفعلية بين الأشقاء 3-5%، في حين تكون الخطورة أقل 0.13% بين الأقارب من الدرجة الثانية والثالثة.

13.16. الثلاسيميا بيتا (Beta-Thalassemia):

تظهر اللطاخة الدموية للحالات متماثلة الزيجوت نقص صباغ شديد (Hypochromia) وكريات صغيرة (Microcytes)، مع وجود خلايا هدفية (Target cells)، وزيادة في الهيموغلوبين F. وعادة ما توجد زيادة في الهيموغلوبين A2 أيضاً. ينقص أو ينعهد تصنيع البيتا - غلوبين. يحدث لدى متماثلي الزيجوت (أو مغايري الزيجوت المركب) فقر دم مزمن شديد، بسبب عدم فعالية تكون الكريات الحمر، وكذلك انحلالها، ويحتاج هؤلاء المرضى إلى نقل دم متكرر. يقل معدل البقيا لدى هؤلاء المرضى بالرغم من التدبير الجيد. شدة المرض متفاوتة ويعتمد ذلك على الآفة الجزيئية، وترافقها في نفس الوقت مع اعتلالات هيموغلوبينية (Hemoglobinopathies) أخرى.

تورث كخلة متنحية جسدية مع وجود عدد مختلف من الطفرات (أكثر من 120) في مجموعة الجينات البيتا - غلوبين ($\alpha HBBCO$) لقد أدت عملية الانتقاء إلى إحداث تواتر مرتفع من حملة البيتا - ثلاسيميا في السكان حول البحر الأبيض المتوسط (مثلاً واحد لكل ستة عند القبارصة، وواحد لكل أربعة عشرة عند اليونانيين). أما هنود آسيا (واحد من كل ستة إلى واحد من كل 50)، وعند الصينيين (واحد من كل 50). وقد لوحظ وجود طفرة خاصة شائعة تصيب كل مجموعة سكانية. (على سبيل المثال: في البيتا غلوبين - تتوضع الطفرة بين G-C عند النوكليوتيد 5 للإنترون 1 عند الهنود، في حين توجد (Q X 39) في سكان سردينيا). يمكن الكشف عن الحملة Carriers عن طريق التحاليل الدموية (صغر حجم الخلايا MCV أقل من 80 fl ونقص متوسط الهيموغلوبين في الخلية MCH أقل من 27 Pg، وزيادة الهيموغلوبين A2 لأكثر من 3.5 %). يمكن عمل التشخيص قبل الولادي بتحليل الدنا على عينات من الزغابات المشيمائية، أو بأخذ عينة عن دم الجنين وإجراء الفحوص الدموية عليها.

14.16. عمى الألوان (Color Blindness):

يمكن الكشف عن هذه الحالات عن طريق لوحات الإبصار الملونة. (Color vision charts) وتكون حدة الإبصار في الحدود السوية.

تعتمد رؤية الألوان السوية على ناتج ثلاثة مواضع Loci، الأزرق (BCP)، على الصبغي رقم 7، والأحمر (RCP) والأخضر (GCP)، على الصبغي (Xq28)، يحدث عدم تساوي في التعابر Unequal crossing بشكل شائع بين جينات الأحمر والأخضر، وينتج عن ذلك تغير، أو فقد انمصاصة الطيف لنتائج جين الأحمر والأخضر. تصيب العيوب المتنحية المرتبطة بالصبغي X

لرؤية الألوان الحمراء والخضراء 8% من الذكور القوقازيين (وهي نادرة في السود والشرقيين)، مع غياب جين الأحمر أو الأخضر في ربع الحالات، وتغير في هذه الجينات لدى البقية.

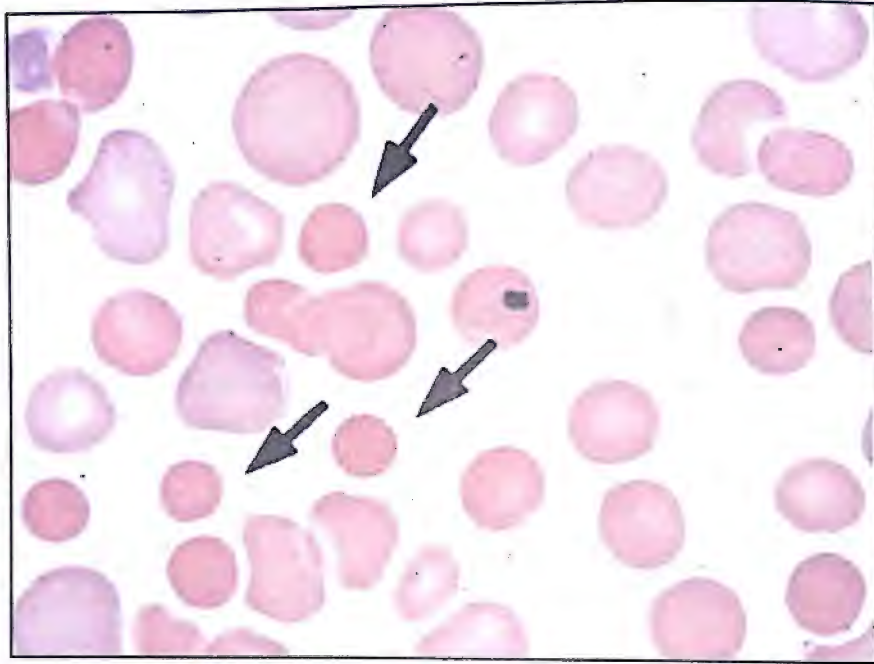
15.16. فرط تنسج الكظر الولادي (نقص 21-هيدروكسيلاز) (Congenital Adrenal Hyperplasia (21-Hydroxylase Deficiency))

تحدث إقباءات عند الوليد، وفي الحالات التي يحدث فيها فقد الأملاح (Salt-losing)، تحدث صدمة وقد تؤدي إلى الوفاة. تُشاهد مظاهر الترجل عند الإناث، مع أعضاء تناسلية مبهمة، وفي الذكور هناك بلوغ مبكر. مع ارتفاع الكيتوستيرويدات والبرغنانترول (Pregnanetriol) في البول. فحص الدم يُظهر ارتفاعاً شديداً في 17 هيدروكسي بروجسترون و (ACTH)، تعود هذه التغيرات الكيميائية إلى المستوى السوي مع المعالجة. يبقى معدل البقايا والخصوبة في المجال السوي إذا شخصت الحالة مبكراً، وبدأ العلاج الاستبدالي بواسطة الهيدروكورتيزون والفلودروكورتيزون.

يورث كخلة متحبة جديّة بسبب تحول الجين Gene Conversion في 70% من الحالات، أو التعابر غير المتساوي Unequal crossing-Over (30% من الحالات) التي تشمل جينات السيتوكروم الفاعل (P450)، المسؤول عن 21 هيدروكسيلاز، والمرتبطة مع مركبات التوافق النسيجي الكبرى (MHC) على الصبغي 6. إن الطفرة الأكثر شيوعاً في المملكة المتحدة هي تحول الجين الفاعل (CYP21B) إلى النوع المجاور من الجين الكاذب (Pseudogene (CYP21A)، ويظهر هذا النوع من الطفرات ترابطاً غير متوازن مع النمط الفردي (B55, DR4, HLA A11). النماذج التي لا تفقد الملح، وكذلك التي تفقد الملح 50% تكون متشابهة الأليل، ومن ثم تبدي بعض مستويات الفاعلية للإنزيمات المتبقية. يمكن التعرف على الحاملة بواسطة تحاليل الدنا، كما أن التشخيص قبل الولادي متوفر عن طريق قياس 17 هيدروكسي بروجسترون في السائل السلوي أو بواسطة تحاليل الدنا في عينات من الزغابات المشيمائية، وذلك من أجل إعطاء الدكساميثازون، (1.5 ملجم يومياً) مقسماً على عدة جرعات، حتى يمنع الترجل (Verilization) لدى الجنين الأنثوي المصاب. نسبة الوقوع هي واحد إلى 8000-26000 في الولايات المتحدة الأمريكية، ونحو واحد إلى 17000 في المملكة المتحدة، وأخيراً نحو واحد إلى 500 في النرويج الأسكيمو. يعتبر نقص 21-هيدروكسيلاز هو أشيع الأسباب (95%) لمتلازمة فرط التنسج الكظري الولادي، ولكن عرفت حالات نقص إنزيمات أخرى نادرة، تنصف بملامح سريرية مغايرة، وشذوذات بيوكيميائية مختلفة.

16.16. داء تكور الكريات الخلقي (Congenital Spherocytosis):

يتميز بفقر دم انحلالي مزمن مع ضخامة طحالية، وارتفاع في نسبة البيليروبين غير المباشر، ووجود الكريات الحمراء الكروية مع زيادة في متوسط تركيز الهيموغلوبين في الكرية (MCHC)، وتناقص في مدى بقيا (Survival) هذه الكريات، وزيادة في هشاشتها التناضحية (Osmotic fragility). قد يؤدي استئصال الطحال إلى منع نقل الدم المتكرر، والوصول إلى بقيا سوي (الشكل 16-9).
هذه الحالات متغايرة الوراثة وذلك بسبب طفرات في جينات (Ankyrin)، (β -Spectrin)، وألفا سيكترين، وبروتين (4.2). تُظهر معظم العائلات وراثة سائدة جسدية، ولكن يمكن أن تكون متحية جسدية. نسبة التواتر واحد لكل خمسة آلاف.



(الشكل 16-9): داء تكور الكريات الخلقي Congenital Spherocytosis.

17.16. الداء الليفي الكيسي (Cystic Fibrosis):

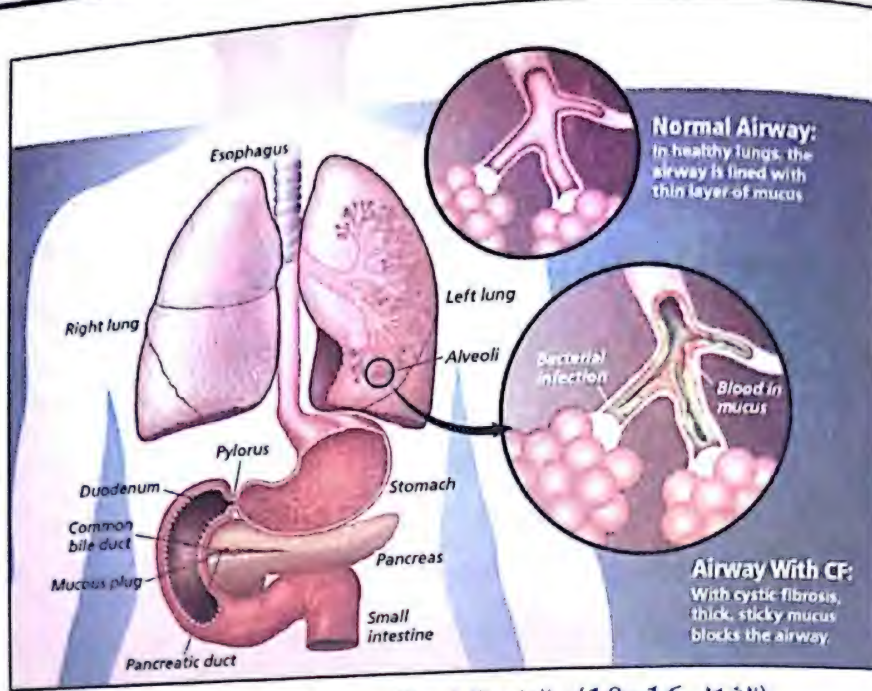
يشخص بقياس الصوديوم في العرق إذ يكون أكثر من (60 ميلي مول/ليتر)، والكلور أكثر من (70 ميلي مول/ليتر). ويمكن الحصول على كمية كافية من العرق، بعد تطبيق البيلوكارين على الجلد، واستعمال تيار كهربائي (Iontophoresis). يعتبر عدم وجود التريسين (Trypsin) في عصارة البنكرياس، مع ارتفاع التريسين المقاس مناعيا في دم الوليد. وهي معطيات تتيح التقصي (Screening) في الولدان (الشكل 16-10).

يحدث قصور البنكرياس في 85-90%، وآفة مرضية مزمنة في الرئة ثانوية للإنتان المتكرر، يحدث أيضاً نذل للمستقيم 5-10%، ويصاب الذكور بالعقم 98%، ويوجد عقي (Meconium) في 5-10%، وتشمع كبد 1-5%، وتكون البقيا الوسطية نحو 25 سنة، ولكن هناك اختلاف في شدة الصورة السريرية.

تورث حالة التليف الكيسي كخلة متنحية جسدية، وتحدث بسبب عدد مختلف (نحو 500) من الطفرات في الجين المنظم للتوصيل عبر الأغشية في التليف الكيسي (*CFTR*) يوجد خبن مقداره (bp3) في الموضع (508) (F508). ويمثل أكثر الطفرات شيوعاً. إذ تشكل 70-80 % من الألائل الطافرة في شمال أوروبا والولايات المتحدة الأمريكية، ولكنها أقل شيوعاً في جنوب أوروبا 45-55 %، وفي الأمريكيين السود 37 %، والأشكيناز 30%. يصنع البروتين عند المصابين بـ ($\Delta F 508$) بشكل خاطئ أثناء عملية الترجمة، ويحدث له تدرج (Degradation) قبل أن يصل إلى مكان عمله. بالنسبة للطفرات الأخرى، يكون معظمها طفرات خاطئة التعبير (Missence) 40% ثم انزياح الإطار (Frameshift) 30، طفرة عديمة المعنى Nonsense 20% وطفرات تضيفيرية (Splicing mutations) 10%، وتعتبر الطفرات الطويلة نادرة.

الحالات متماثلة الزوجات لـ ($\Delta F 508$) (التي تمثل نصف الحالات في شمال أوروبا وفي المرضى الأمريكيين)، أو الطفرات الأخرى التي لا تبقى لها أي وظيفة. تترافق مع عدم كفاية للوظيفة البنكرياسية. إلا أن النمط الجيني (حتى في داخل العائلة نفسها)، لا ينبئ عن مدى شدة الإصابة الرئوية التي تمثل العامل الرئيسي للإنذار. من ناحية أخرى، فإن متماثلي الألائل، ومتغايري الألائل المركب، التي بقي لها جزء وظيفي، تكون الوظيفة البنكرياسية سليمة، وعند البعض، تكون الأعراض الوحيدة هي التهابات المزمنة للجيوب (Chronic sinusitis)، أو العقم عند الذكور، بسبب الغياب الولادي للأسهر (Vas-deferens) وهذه الحالة تمثل 6 % من كل حالات العقم عند الذكور).

يمكن الكشف عن الحمل، وكذلك إجراء التشخيص قبل الولادي بعمل التحاليل الدنا نسبة تواتر المصابين متماثلي الزوجات نحو (1) لكل 2500 في شمال أوروبا، ونسبة الحمل (Carrier State) هي واحد لكل 25، ولكنها أقل شيوعاً في السود (1 لكل 17000 في السود الأمريكيين)، وفي الشرقيين.



(الشكل 16-10): الداء الليفي الكيسي Cystic Fibrosis.

18.16. الداء السكري المعتمد على الأنسولين

(Insulin-Dependent Diabetes Mellitus; IDDM):

يعد الداء السكر حالة متعددة الأشكال، ولها على الأقل ثلاثة تحت أنماط سريرية، المعتمد على الأنسولين (الشبابي البدء)، غير المعتمد على الأنسولين (الكهلي البدء)، وكل من هذين النمطين يُظهران وراثية متعددة العوامل، وأخيراً السكري الذي يتظاهر في اليافعين Diabetes of Youth (MODY)). هذا النمط الأخير يورث كخلة سائدة جسدية، وقد تبين في أغلب العائلات أنه يحدث بسبب طفرات في جين إنزيم الغلوكوكيناز.

يُقدّر التردد الكلي للداء السكري المعتمد على الأنسولين بواحد لكل خمسمئة، ويمثل التوائم 30-40% من التوائم أحادية الزيجوت، بالمقارنة مع 6% من التوائم ثنائية الزيجوت. إن درجة الخطورة الكلية بالنسبة للأشقاء هي 6.65%، وتكون الخطورة 4.8% بالنسبة للطفل إذا كان الأب مصاباً، ولكن تكون الخطورة 2% إذا كانت الأم مصابة.

إن أول إشارة نحوالمشاركة الوراثية في الإصابة بالداء السكري المعتمد على الأنسولين جاءت عن طريق دراسات الترافق (Association studies) مع مركبات التوافق النسيجي الكبرى. وضعت التوافقات البدئية مع HLA B8 أو B15 (نحو 60% من المرضى)، وكانت هذه مفاتيح للمعقدات DR3 و DR4 على التوالي، التي كانت في حالة عدم توازن الارتباط (Linkage disequilibrium).

كان لدى 95% من المرضى DR3 و DR4 بالمقارنة مع تواتر مشترك لهما بمقدار 50% من السكان الطبيعيين. لقد دعم هذا الترافق دراسات ثنائيات الأشقاء Sib pair analysis التي أوضحت أن الأشقاء

المصابين لديهم نفس النمط الفردي لمركبات التوافق النسيجي الكبرى MHC في 57% (المتوقع 25%)، ولديهم نمط فردي مشترك 38% (المتوقع 50%)، وليس لديهم نمط فردي مشترك في 5% فقط (المتوقع 25%). إضافة إلى ذلك يزداد التوافق والخطورة النسبية إذا درست تحاليل تعدد أشكال النسا عند الموضع المجاور DQBI. كما بينت دراسات التسلسل عند هذا الموضع تغيرات ثابتة عند مقل الحمض الأميني 57 الذي يمثل جزءاً من الفلح الرابط للمستضد (Antigen binding cleft).

إذا كانت الأحماض الأمينية ألانين، فالين، وسيرين موجودة في ذلك الموضع، عندها يكون لدى الأفراد استعداد للمرض، في حين يضيف وجود الأسبارتات (Aspartate) مقاومة لحدوث المرض. إن النسبة الكلية لمرضى الداء السكري المعتمد على الأنسولين، ويكتون متماثلتي الزيغوت لسلبية الأسبارتات، هي 90-96%. ويكون الباقيون مغايري الزيغوت بالمقارنة مع متماثلتي الزيغوت لسلبية الأسبارتات في عامة السكان 19.5% (الخطورة النسبية 107). يعتقد أن هذه التغيرات مسؤولة عن 60-70% لتكوين الاستعداد الوراثي للداء السكري المعتمد على الأنسولين، مع بعض الشواهد على مشاركة مهمة لموضع آخر على الذراع الطويل للصبغي 14، وعند أو قرب جين الأنسولين على الذراع القصير للصبغي 11، ومواقع أقل أهمية على صبغيات أخرى.

لقد تمت أيضاً دراسة طبيعة العوامل البيئية المؤهبة. كان لدى نحو 30% من المرضى المشخصين بشكل جديد أضداد من نوع IgM ضد فيروسات كوكساي B4 أو B5 (Coxsackie B4 or B5)، وبعض الدلائل على العدوى بالفيروس المضخم للخلايا (Cytomegalovirus) في بعض المرضى. وبالرغم من ذلك فهناك بعض المرضى الآخرين إذ لم يتعرف على عامل بيئي واضح، وبقي التساؤل قائماً عما إذا كانت هناك أذية معينة موجودة.

19.16. الداء السكري غير المعتمد على الأنسولين

(Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus; NIDDM):

يصيب هذا النوع من الداء السكري 3-7% من البالغين في الدول الغربية، ويكون التواءم بين التوائم أحادية الزيغوت نحو 100%، بالمقارنة مع 10% من التوائم ثنائية الزيغوت، 10% من الأقارب من الدرجة الأولى. وعلى عكس الداء السكري المعتمد على الأنسولين، لا يوجد ترافق مع الزمر النسيجية HLA، ومازالت طبيعة المشاركة الوراثية تحت الدراسة.

20.16. الصرع (Epilepsy):

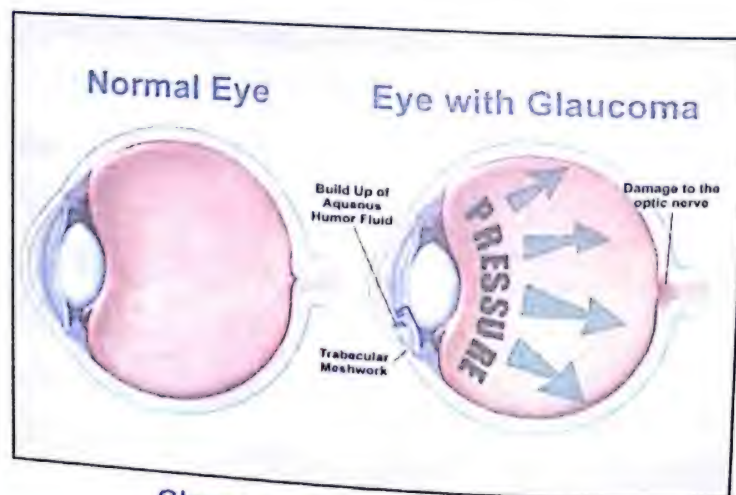
هناك نحو 200 اضطراب أحادي الجين (Monogenic)، يكون الصرع ضمن مكوناتها، ولكن كل من هذه الاضطرابات نادرة الحدوث، وجميعها مسؤول عن أقل من واحد بالمئة من مرضى الصرع. وبشكل عام فكلها تظهر ملامح سريرية إضافية، تمثل مع شجرة العائلة دلائل مهمة على التشخيص. يكون الصرع متعدد العوامل أكثر شيوعاً، وهو مسؤول عن ما يصل إلى 20% من مرضى الصرع. وعادة لا توجد ملامح أخرى مرافقة، ومن أجل المشورة الوراثية توجد بعض الخطورة التخيرية (المأخوذة عن الخبرة العملية Empiric).

تحدث بعض الاختلاجات المصاحبة للحمى في 2-5%، عند الأطفال في أوروبا والولايات المتحدة الأمريكية. تمثل الخطورة لدى الأشقاء 10-20% والخطورة في نسل الشخص المصاب نحو 10%.

يصيب الصرع المعمم مجهول السبب (Idiopathic generalized) الصرع الكبير (Grand mal) واحداً من كل 200 من السكان، ويحمل خطورة رجعة بمقدار واحد لكل 25 بالنسبة للأقارب من الدرجة الأولى (8.7% ببلوغ عمر 25 سنة إذا كانت الأم مصابة، 2.4% إذا كان الأب مصاباً). وترتفع نسبة الخطورة لتبلغ واحداً من كل عشرة إذا كان اثنان مصابين من الأقارب من الدرجة الأولى. يصيب الصرع الصغير (Petit mal) واحداً من كل 15.000 طفل، ويحمل خطورة بالنسبة للنسل بين 8-10%، وخطورة بين الأشقاء 5-10%.

21.16. الزرق (Glaucoma):

يصيب الزرق مفتوح الزاوية الأولي (Primary open-angle)، واحداً من كل 200 من الأفراد البالغين، ويحمل نسبة خطورة بمقدار واحد من كل عشرة من الأقارب من الدرجة الأولى (الشكل 16-11).



(الشكل 16-11): الزرق (Glaucoma)

22.16. انحلال البشرة الفقاعي (Epidermolysis Bulosa):

توجد تحت أنماط (Subtypes) متعددة، مع وجود مجال واسع للأنماط الظاهرية من شدة النفطات (Blisters) الجلدية، نتيجة التعرض للرض. قد يحتاج تقسيم الأنواع إلى إجراء التشريح المرضي بما في ذلك استعمال المجهر الإلكتروني.

يختلف الإنذار حسب التصنيف (وتتراوح بين الموت الوليدي إلى بقيا حياة طبيعي).

إن أكثر الأنماط شيوعاً هو انحلال البشرة الفقاعي البسيط (Simplex) إذ يحدث انشطار في الخلايا القاعدية البشروية. هناك تحت أنماط عديدة، كل منها يورث كخلة سائدة جسمية بسبب طفرات في جينات الكيراتين. (مثل، الكيراتين 14)، أو الجينات المتحكم فيها (مثل: كيراتين 14 أوكيراتين 5).

يُظهر النوع الحثلي (Dystrophic) وراثية متنحية جسمية، ويمكن التشخيص قبل الولادي عن طريق خزعة الجلد من الجنين وفحصها بالمجهر الإلكتروني (الشكل 12-16).



(الشكل 12-16): انحلال البشرة الفقاعي Epidermolysis Bulosa.

23.16. متلازمة الصبغي X الهش (Fragile X Syndrome):

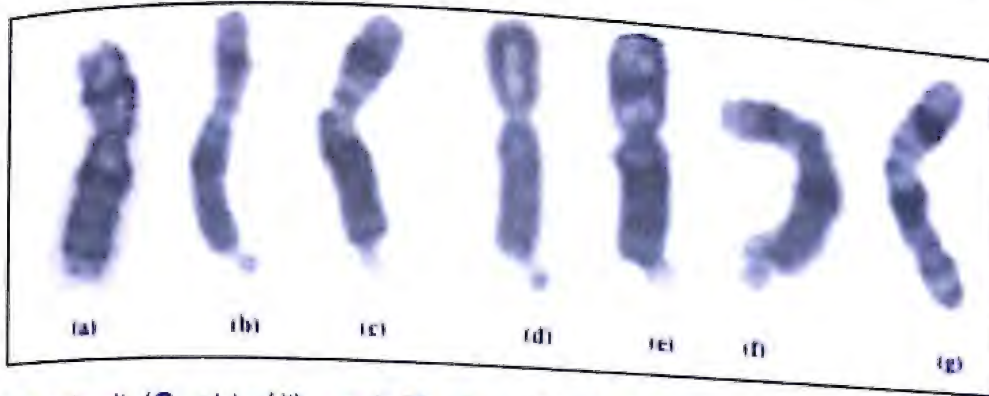
يتم تشخيصه تحت ظروف زرعية خاصة (أوساط ناقصة لمواد الثيميدين وكذلك ديزوكس سيتيدين)، عادة ما تُظهر الفحوص الخلوية الجينية (Cytogenetics) في الذكور والإناث المعاقين عقلياً ولديهم الصورة الكاملة لمتلازمة الصبغي X الهش، نقطة هشّة عند (Xq27-3) في 10-40% من الخلايا (الشكل 13-16). يظهر الموضع الهش أيضاً في نصف الإناث غير المصابات والحاملات للطفرة الكاملة. ولكن الباقيات، والحملة (ذكور وإناث) في مرحلة قبل الطفرة، تكون التحاليل الخلوية الجينية لديهم سوية.

تتحلل الدنا في العادة طفرة طويلة غير مستقرة في الموضع (CGG) المتكرر (عادة ما يكون 6-52 مرة بمتوسط مقداره 30 تكراراً) في ناحية (5' UTR) من الجين (FMR1) يكون قد نسخة النسا لدى الذكور قبل مرحلة الطفرة - وهذه الشدفة التي تحتوي على تكرار (CGG) في حدود (150-500 bp). وتُشاهد زيادة مماثلة لتلك التكرارات عند النساء في مرحلة قبل الطفرة، والشريط الثاني يمثل الصبغي X الطبيعي. يحل محل الشريط الطبيعي لدى الذكور المصابين، شريط فرداني أكبر (1-4 kb)، أو الكثير من الشرائط المحددة والأكثر، أو لطاخة من شدف الدنا (وتمثل عدم الثبات الجسدي للطفرة). إن الحاملات الإناث للطفرة الكاملة (سواء كن سويات أو معاقات عقلياً) لديهن شريط سوي بقدر طبيعي بجانب الشريط أو الشرائط الطافرة، كما يُشاهد أيضاً عند الذكور المصابين. في حالة الطفرة الكاملة، يصبح الجين (FMR1) مفرد التمثيل، ويشبط الانتساخ (الشكل 16-14).

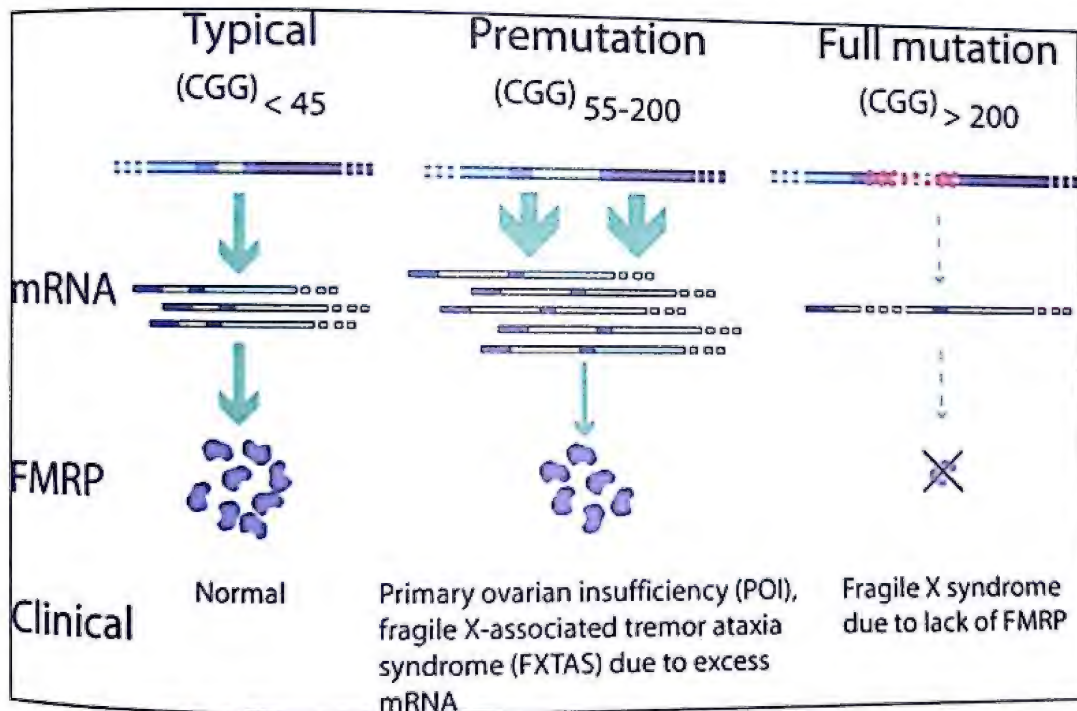
يكون الصفة من الذكور والإناث لمرحلة ما قبل الطفرة (Premutation) (الطفرات قصيرة الطول) أسوأ من الناحية السريرية. قد تكون الإناث المصابات بطفرة كاملة طبيعيات، أو قد يظهر إعاقة بدنية خفيفة 20-30 %، أو متوسطة 1 %، في حين يكون الذكور المصابون بطفرة كاملة معاقين عقلياً، و 50 % منهم يكون لديهم خصية كبيرة عند البلوغ. أما الملامح الأخرى غير الثابتة فتشمل كبر اللتين، واستطالة الوجه، والفقم (Prognathism).

تؤدي عدم ثباتية الطفرة الطولية إلى وراثة غير نمطية مرتبطة بالصبغي X في هذه المتلازمة. فجميع ذوات المنحدرات من ذكور أسوياء إكلينيكيّاً لديهم حالة ما قبل الطفرة (Premutation) (ذكور ناقلين أسوياء) يرثون حالة ما قبل الطفرة، وينقلونها إلى النسل كما هي أو بعد أن تتطور إلى الطفرة الكاملة. ويمكن أن تمت الطفرة الكاملة زيادة على ذلك في النسيج الجسدي أو عند الانقسام الانتصافي لدى الإناث. على هذا الأساس، يمكن أن يكون لدى الأقرباء المصابين طفرات طويلة مختلفة، ويُظهرون اختلافات عديدة في الأنماط الظاهرية. في الممارسة يكون لدى أمهات الذكور المصابين إما حالة ما قبل طفرة، وإما الطفرة الكاملة. من ناحية الأمهات اللاتي لديهن الطفرة الكاملة فإن نصف أولادهن الذكور سيكونون معاقين عقلياً، وستأخذ نصف بناتهن الطفرة الكاملة (ونصف هذه البنات سيكون معاقات عقلياً بدرجات مختلفة). يمكن التشخيص قبل الولادي عن طريق تحليل الدنا في الثلث الأول من الحمل، ولكن لنكهن بمن من الإناث اللاتي سيأخذن الطفرة الكاملة سيكون معاقات، ما زال غير ممكن. بالنسبة للأمهات اللاتي لديهن حالة ما قبل الطفرة، فإن خطورة امتدادها إلى الطفرة الكاملة عند الانقسام الانتصافي يعتد على قد ما قبل الطفرة، إذ تكون 16% إذا كانت التكرارات (CGG 61-70)، وتكون 70% (CGG 71-80) وأخيراً 100 % إذا كانت التكرارات (أكثر من 80 CGG).

إن أكثر الأسباب شيوعاً للإعاقة العقلية هي متلازمة الصبغي X الهش، ويكون تواترها واحداً لكل 1250 ذكراً، ولكن تواتر ما قبل الطفرة يكون أكثر (واحد إلى 500-1500 في الذكور، وواحد لكل 250-510 في الإناث).



(الشكل 16-13): الموضع الهش عند (Xq27.3) (a) صبغي X طبيعي (الفصايات G) الموضع موضح كفسحة (c-e) gap الموضع موضح ككسر كروماتيدي عند الفسحة (d: aceto-orcein) (f) ثلاثي التشيع ناتج من كسر كروماتيدي عند انقسام سابق تبعه لاحقا عدم انفصام للشدفة القاصية. (g) فقد (X4 28) تبيع كسر في زوج الكروماتيد.



(الشكل 16-14): تحليل الدنا في متلازمة الصبغي X الهش Fragile X Syndrome.

24.16. نقص إنزيم الغلوكوز 6 فسفات ديهيدروجيناز

(Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency):

يتم التشخيص بقياس الإنزيم (G6PD) في الكريات الحمراء (قد يُعطى هذا القياس نتيجة سلبية كاذبة بعد توبة انحلالية)، تختلف المعطيات السريرية، فقد يكون الذكور المصابون بدون أعراض، أو قد يشاهدون بعد الولادة وقد طالت فترة اليرقان، وقد يراجعون بعارضة انحلالية، أو بأعراض فقر دم انحلاي مزمن. يمكن أن يؤدي حدوث العارضة الانحلالية لبعض الأدوية (مثل اليريماكين والسلفوناميد) أو مواد كيميائية (مثل النفتالين، ودواء العثة)، وأحياناً عن طريق أكل الفول (Fava beans) (الفول)، وأخيراً عن طريق بعض العدوى. عادة ما تكون النساء الحوامل للمرض دون أعراض، ولكن ربما طالت فترة اليرقان الولادي (Prolonged neonatal jaundice)، أو تحدث عارضات انحلالية إذا تعرضن لبعض العوامل البيئية.

تورث كخلة متحبة مرتبطة بالصبغي X، بسبب مجموعة من الطفرات في جين (G6PD). لقد وصف أكثر من 300 نوع مختلف، معظمها يُظهر مستويات سوية لفعالية الإنزيم وأغلبها بدون أعراض. كل القوقازيين تقريباً، وأغلبية السود لديهم رحلان كهربائي سوي للنمط B من (G6PD)، أما النمط A فله شكل مختلف للرحلان، بالرغم من مستوى فعالية للإنزيم قريب من الطبيعي. يوجد هذا النوع في 20 % من السود، وينتج عن طفرة نقطية (N126D) يوجد النوع (A-) في 10 - 25 % من السود، وله 15 % فقط من فعالية الإنزيم (G6PD)، وهو بسبب طفرة نقطية ثنائية (V68M) على خلفية A. (بمعنى وجود نقطتين طافرتين في {A} بالمقارنة مع الطبيعي). تميل الملامح السريرية للعائلات التي لديها (A-) إلى أن تكون أخف عن طريق الطفرات التي تكون شائعة في الصينيين، مثلاً (G163S)، والسكان حول البحر الأبيض المتوسط مثلاً (S188F). نسبة تردد نقص (G6PD) صفر إلى 5 % في الصينيين، وصفر - 20 % عند الإيطاليين، وصفر - 32 % عند اليونانيين، و5-65 % عند السعوديين، يمكن الكشف عن الإناث الحوامل للخلة عن طريق قياس (G6PD) في الخلايا الحمراء، أو تحليل الدنا.

25.16. اعتلال الأمعاء للغلوتين (الداء الزلاقي: Gluten Enteropathy):

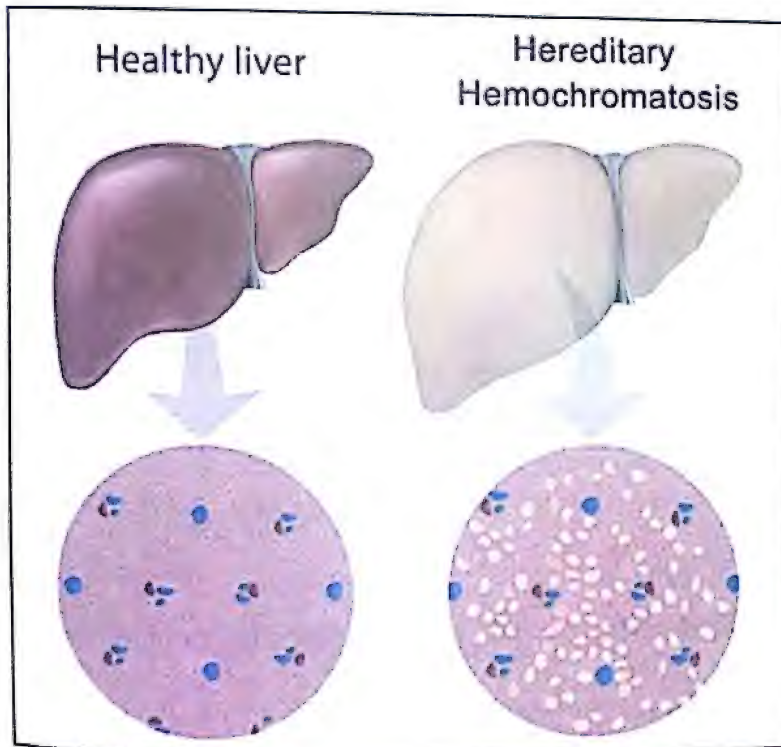
تصيب متلازمة سوء الامتصاص بسبب عدم تحمل الغلوتين، واحد من كل 2000 فرد في أوروبا. تقدر خطورة الرجعة عند الأشقاء والنسل (1 لكل 33) (من المرضى العرضيين بالرغم من وجود واحد لكل عشرة ممن لديهم خزعة صائمية شاذة. تكون الخطورة للمرض العرضي أقل من واحد لكل 100 من الأقارب من الدرجة الثانية.

إن العامل البيئي المؤهب هو بروتين الألفا غلايادين (Alpha gliadin)، وهو أحد مكونات بروتين الجلوتين في القمح، والأفراد الذين لديهم استعداد يظهرون ترافقاً مع HLA DR3 و DR7. لقد بينت الدراسات على

الدنا، ترافقا مع DPB4.2 و DPB3 ذا أهمية خاصة. يعتقد أن بعض القطع متعددة الأشكال عند جزيء DP في المواضع 57, 56, 69 لها أهمية كبيرة في إضفاء الاستعداد لهذه الحالة.

26.16. داء الصباغ الدموي (Hemochromatosis):

بالنسبة لمتماثلي الألائل، يوجد ارتفاع مستوى الحديد في المصل، وزيادة إشباع الترانسفيرين، وكذلك الفريتين في المصل، كما توجد زيادة للحديد في شرائح الخزعة الكبدية. أما بالنسبة لمتغايري الألائل، فكل شيء طبيعي عدا مستوى الفريتين في المصل إذ يزداد 3-10 أضعاف (الشكل 15-16). إذا لم تعالج هذه الحالات، فتشتمل المضاعفات: الداء السكري، وتشمع الكبد، واعتلال العضلة القلبية، واعتلال المفاصل. الفصادة الدموية المتكررة تحسن الإنذار. تورث كخلة متنحية جسمية، وموضع الجين (HFE) في الصبغي (p216) نسبة التواتر واحد لكل 400 من القوقازيين، والحملة (1 في كل 10). يمكن الكشف عن الحامل للخلة في العائلة المصابة باستعمال مشاركة التحاليل البيوكيميائية وتحاليل الدنا.



(الشكل 15-16): داء الصباغ الدموي Hemochromatosis.

27.16. داء الناعور A (Hemophilia A):

يشخص بحدوث نزوف راجعة بعد العمليات، وأحياناً تحدث النزوف بشكل تلقائي في الأنسجة الرخوة والمفاصل. يكون العامل 8 أقل من 30 % من الطبيعي، (وإذا كان أقل من 1 % يكون المرض شديداً، من 1-5 % يكون متوسط الشدة، ويكون خفيفاً إذا كان 5-30 %، يكون معدل البقاء في الحدود السوية مع المعالجة بإعطاء العامل الثامن وردياً.

تورث كخلة متنحية مرتبطة بالصبغي X ناتجة عن عدد مختلف من الطفرات في جين العامل الثامن (F8C). إحدى هذه الطفرات الشائعة هي الانقلاب أثناء إعادة الترتيب (Inversion rearrangement)، وتمثل نصف الحالات المرضية الشديدة (ونحو 20 % من جميع طفرات حالات الناعور A). بعض الطفرات الأخرى المترافقة تصاحب المرض الشديد، أما الطفرات خاطئة التعبير (Missense) فتترافق مع المرض الخفيف إلى المتوسط. يمكن الكشف عن حاملات الخلة عن طريق المشاركة بين التحاليل الدموية وتحاليل الدنا. يمكن أيضاً إجراء التشخيص قبل الولادي عن طريق تحليل الدنا من عينة من الزغابات المشيمائية (أو عن طريق التحاليل الدموية لعينة من دم الجنين). يصيب مرض الناعور A واحد لكل خمسة آلاف ذكر، ويمثل 85 % من جميع مرضى الناعور.

28.16. داء الناعور B (Hemophilia B):

لا يمكن التمييز بينها وبين الناعور A من الناحية السريرية. ولكن في الناعور B يكون هناك نقص في العامل IX (التاسع) لأقل من 30 %. بعد تطبيق المعالجة بإعطاء العامل التاسع وردياً، يكون معدل البقاء في الحدود السوية.

تورث كخلة متنحية مرتبطة بالصبغي X، ناتجة عن مجموعة متنوعة من الطفرات في جين العامل التاسع (F9). الطفرات المترافقة مع فقد وظيفي، تصاحب المرض الشديد، في حين أن الطفرات خاطئة التعبير (Missense) تترافق مع المرض الخفيف إلى المتوسط. يمكن الكشف عن حملة الخلة عن طريق مشاركة بين التحاليل الدموية وتحاليل الدنا. يمكن إجراء التشخيص قبل الولادي بواسطة تحاليل الدنا من عينة مأخوذة من الزغابات المشيمائية (أو عن طريق التحاليل الدموية المأخوذة من دم الجنين). يصيب الناعور B الذكور بنسبة واحد لكل 30000.

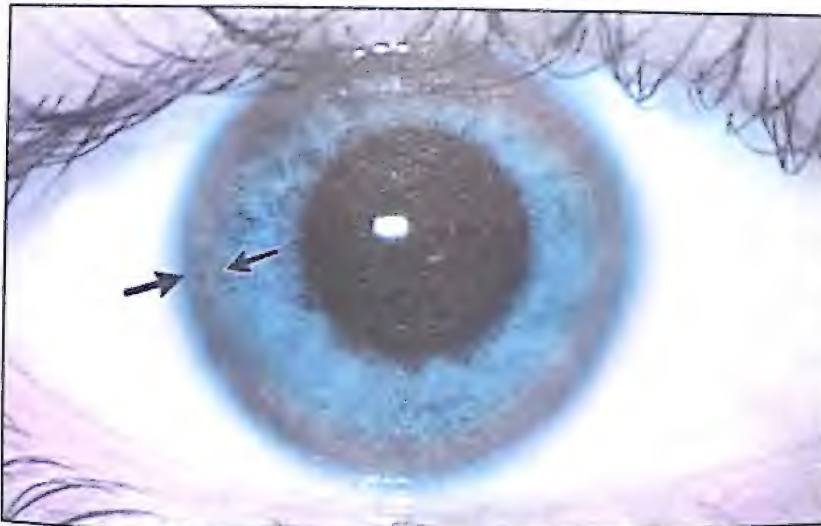
29.16. التنكس العدسي - الكبدى (داء ويلسون)

Hepatolenticular Degeneration (Wilson's Disease)

يكون البدء في النوع الشبابي وما بعد سن الشباب (نادراً ما يصادف بعد سن 30 سنة)، عبارة عن آفة مترقية في الكبد، واضطراب في وظائف النوى القاعدية، وتغيرات سيكولوجية وسلوكية. تظهر حلقات كايزر - فليشر، وهي تصبغات بنية خضراء متوضعة على محيط القرنية (بعد سن 7 سنوات) (الشكل 16-16). في هذه المتلازمة، يوجد عيب في استقلاب النحاس، فيقل مستوى السيريوپولولازمين في المصل، ويزداد النحاس في الخلايا الكبدية، كما يزداد طرح النحاس في البول حينما يُعالج المصاب بالبنيسلامين - د (D-Penicillamine).

يحدث في الحالات غير المعالجة التهاب كبد فعال مزمن، وبعض الاضطرابات العصبية، ولكن مع العلاج يكون معدل البقاء طبيعياً.

يورث كخلة متنحية جسمية، ويكون الموضع مجموعة متنوعة من الطفرات في جين الببتيدات بيتا الناقل للنحاس (WIND). يمكن الكشف عن الحامل في داخل العائلة وكذلك التشخيص قبل الولادي عن طريق تحاليل الدنا. نسبة التردد لمتماثلي الألائل هي واحد لكل 33 ألفاً (نسبة حمل الخلة 1 إلى 90).



(الشكل 16-16): حلقة كايزر-فليشر (Kayser-Fleischer Ring) في داء التنكس العدسي-الكبدى.

إن توزيع ضغط الدم الانقباضي والانقباضي في عموم السكان يتبع توزيعاً طبيعياً، ولكن اصطلاحياً، يعتبر الكاهلون الشباب الذين يبدون ضغطاً مستمراً فوق 90-140، أن لديهم فرط ضغط الدم.

يميل ضغط الدم، وسيما الانقباضي، إلى الارتفاع مع تقدم العمر، ومن ثم فالحدود العليا للقياسات الطبيعية تعتمد على العمر. في حالات الحدود العليا الطبيعية المعيارية للضغط يكون 10% على الأقل من السكان لديهم فرط ضغط دم شرياني، أو سيكون لديهم ذلك، ويعتبر خير مؤشر للتكهن بذلك هو النسبة المئوية الحالية (Centile present) لضغط الدم عند الفرد بالمقارنة مع النسبة المئوية (Centile) لضغط الدم الوالدي.

تشير الدراسات على العائلات وفي التوائم أن الجينات والعوامل البيئية سويةً تتشارك في تعيين ضغط الدم، ولكن طبيعة وآلية عملهما والتفاعل فيما بينهما ما زال مجهولاً في الوقت الحاضر. قد تكون الجينات مهمة أيضاً من ناحية اختيار نوع المعالجة بمضادات فرط ضغط الدم.

على سبيل المثال، يترافق ارتفاع الضغط مع استجابة أحسن بحاصرات بيتا في العرق الأسود عن الأبيض. إذا كان الوالد مصاباً بفرط ضغط الدم الشرياني، فإن خطورة الوقوع لدى النسل تكون 30%، وإذا كان الوالدان مصابين، فتكون الخطورة 40% عند النسل.

31.16. فرط الحرارة التخديرية (فرط الحرارة الخبيث)

Hyperthermia of Anesthesia (Malignant Hyperpyrexia)

لا توجد أعراض لدى المصاب إلا حين التعرض إلى السكسين كلون أو الهالوثان - مع انقصار العام، يؤدي ذلك إلى تصل (Rigidity) العضلات، وارتفاع مترو في درجة الحرارة، مع ارتفاع شديد في مستوى الكرياتين كيناز في المصل. تكون نسبة الوفاة نحو 60% في الغرصة (Episode).

عزت كحلة سائدة جسمية مع وجود تغاير جيني (Genetic heterogeneity). بعض العائلات لديها طفرات في مستقبلات الريانودين (RyR1) (Rey amodine RYR1). يمكن تفصي من لديهم خطورة من أعضاء العائلة، بخزعة من العضلة المستقيمة البطنية (Rectus abdominis)، وكذلك تعريض العضلة لثبات المحسة مثل الهالوثان أو الكافين. وأخيراً بواسطة زيادة الكالسيوم المؤثر داخل سيتوبلازم في وحدات النوى في الدم المحيطي، بعد تعرضها للهالوثان. أو بتحليل الدنا إذا عرفت الأمراض الجينية. نسبة التردد واحد إلى 15-150 ألف.

32.16. الداء المعوي الالتهابي (Inflammatory Bowel Disease):

لقد تم التعرف على اثنين من تحت الأنماط الشائعة لداء الأمعاء الالتهابي غير الخمجي، أحدهما التهاب القولون التقرحي (الشيوع 1 لكل 1500)، والثاني داء كرون (الشيوع 1 لكل 5000). أوضحت الدراسات العائلية وعلى التوائم، وراثية متعددة العوامل، وتزداد خطورة الرجعة في كلا النوعين، ومن ثم تزداد درجة الخطورة نحو 13 ضعفاً (30 ضعفاً بالنسبة للأشقاء) عند قريب من الدرجة الأولى لمرضى داء كرون. ونحو 8-10 أضعاف بالنسبة لالتهاب القولون التقرحي. وبشكل مماثل، تزداد الخطورة بالنسبة للأقرباء من الدرجة الأولى لمرضى التهاب القولون التقرحي 15 ضعفاً، 3.5 ضعفاً بالنسبة لداء كرون.

33.16. اعتلال العصب البصري الولادي لـ (ليبر)

:(Leber Hereditary Optic Neuropathy: LHON)

يحدث فقد الرؤية الحاد أو تحت الحاد عند أي سن، ولكن الأكثر شيوعاً في العقد الثاني أو الثالث. أمكن إيضاح بعض الطفرات النوعية في دنا الميتوكوندريا. يكون فقد الرؤية المركزية عادة مترقياً وفي الطرفين. قد يوجد أيضاً عيب في التوصيل الكهربائي القلبي.

يظهر هذا النوع من LHON وراثية عن طريق الميتوكوندريا، ويكون بسبب طفرات في مكونات الجين (المركب 1) (Complex 1) تحدث الطفرة في 50% من المرضى عند النقطة (G to A) في المكان 11778، وموجودة في ND4 (طفرة والاس) (Wallace mutation) في حين يوجد 20% من المرضى حيث الطفرة النقطية (G to A) موجودة في المكان 3460 في الموضع ND2. يكون المرضى عادة متماثلين الهيمولي (Homoplasmic) بالنسبة لهذه الطفرات، وليس كل من لديهم تلك الطفرات لديهم أعراض، مما قد يشير إلى دور لعوامل بيئية غير معروفة حتى الآن.

34.16. الحثل العضلي المرتبط بالصبغي X (X-Linked Muscular Dystrophy):

يوجد نمطان للمرض:

1- الحثل العضلي لدوشين Duchenne Muscular Dystrophy; DMD:

يكون بدء المرض باكراً في الطفولة (90% أبكر من 5 سنوات)، ويتظاهر بضعف عضلي دان مترق، وعادة ما يتأخر مشي الطفل، ونادراً ما يستطيع الجري بشكل طبيعي. توجد ضخامة كاذبة للربلة (Calf).

بحث ارتفاع شديد لإنزيم الكرياتين كيناز في المصل، ويكون تخطيط كهربائية العضلات شاذاً، ويظهر الشرح المرضي لخزعة من العضلات شكلاً مميزاً، مع غياب الديستروفين (Dystrophin).

2- الحثل العضلي لبيكر (Becker Muscular Dystrophy; BMD):

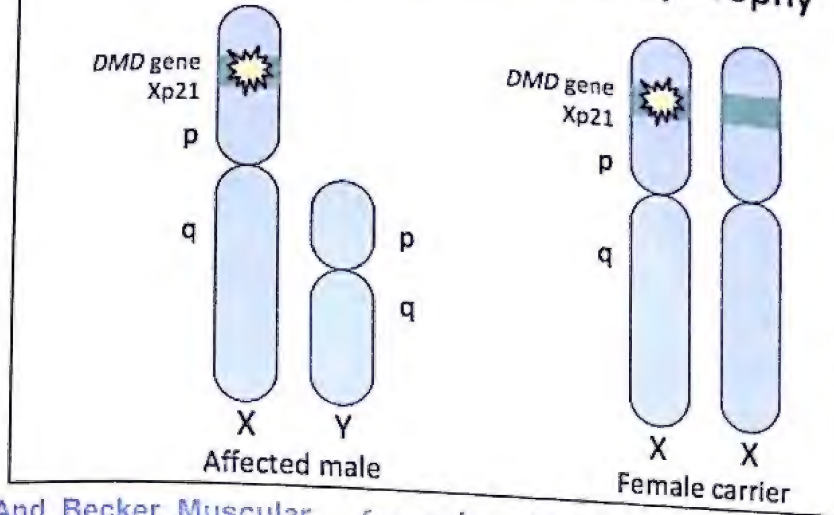
يحدث بدء الضعف العضلي المتتري متأخراً في مرحلة الطفولة. ويتميز بضخامة كاذبة في الريلة، وارتفاع شديد في مستوى إنزيم الكرياتين كيناز في المصل، وشذوذ في تخطيط كهربائية العضلات، وكذلك في الشكل التشريحي للخزعة العضلية ونقص مستويات الديستروفين (بنسبة 3-10%).

يوجد في نمط دوشين إعاقة عقلية 25%، ويصبح رهين المقعد في متوسط مرحلة الطفولة (95% عند سن 12 سنة)، وقد تحدث الوفاة عند سن 20 سنة. أما بالنسبة لنمط بيكر فيكون رهين المقعد في عمر 25 سنة. وقد يكون معدل البقاء سويًا.

كلا النمطين عن الحثل العضلي يورث كخلة متحبة مرتبطة بالصبغي X-، وكلاهما ينتج عن طفرات في جين الديستروفين (DMD). إن أكثرها شيوعاً 65% هي طفرات جزئية مختلفة الحجم، يتبع ذلك مجموعة متنوعة من الطفرات النقطية (الشكل 16-17). يترافق الحثل العضلي لدوشين مع طفرات تقه Nullmutations، ناتجة عن انزياح الإطار (Frameshift) (بسبب طفرات خارج الإطار)، أو طفرات نقطية لاغية (Nonsense)، تمنع إنتاج الديستروفين، في حين أن نمط بيكر (BMD). يُنتج الديستروفين ولكن بكميات منخفضة أوله وظيفة شاذة.

يمكن الكشف عن الحملة بمشاركة التحاليل الكيميائية وتحاليل الدنا. يقاس الكرياتين كيناز (يؤخذ متوسط ثلاثة قياسات منفردة) ويمكن أن يصاحب ذلك معلومات عن الخطورة من شجرة النسب، وكذلك عن معطيات من تحاليل الدنا. يمكن إجراء التشخيص قبل الولادي من تحاليل الدنا لعينات من الزغابات المشيمائية. إذا لم يكن هناك قصة عائلية، فسنجد أن ثلث أمهات الذكور المصابين يكن حاملات، ولديهن خطورة عالية من رجعة ولادة ذكور مصابين، وكذلك النساء القربيات لهن. يكون تردد هذه الحالات بنسبة 1 لكل 3000 ذكر مولود من (DMD)، وواحد لكل 20 ألف ذكر مولود في حالات (BMD).

Duchenne & Becker muscular dystrophy



Duchenne And Becker Muscular Dystrophy (الشكل 16-17): نمطي توريث الحثل العضلي دوشين وبيكر .Dystrophy

35.16. الحثل العضلي التوتري (Myotonic Dystrophy):

يحدث ضعف عضلي متروك في سن مبكرة للكاهل، وخاصة عضلات الوجه، والعضلة القصية الخشائية (Stethomastoid)، وعضلات الطرفين السفليين. توجد صعوبة في إرخاء الكف المنقبض، بسبب التوتر (التشنج) العضلي (Myotonia)، وهذه الظاهرة تكون واضحة عند الكشف السريري، أو إجراء التخطيط الكهربائي للعضلات.

يحدث ساد وخاصة في الجزء الخلفي من العدسة 85%، صلح جبهي، وضمور في الخصية عند الذكور، يوجد أيضاً اعتلال شبكية صباغي (Pigmentary retinopathy)، عيوب في التوصيل الكهربائي للقلب، وأخيراً عجز شديد، غالباً ما يرى بعد 15-20 سنة من بدء المرض. قد يشكل التخدير العام خطورة على المريض، ومن الواجب إنذار طبيب التخدير بالحالة قبل التخدير.

يورث كخلة سائدة جسمية ناتجة من طفرة طولية غير مستقرة، بسبب تكرار الثلاثية القاعدية (CTG) عند النهاية (UTR3) لجين الحثل العضلي التوتري (DM). يوجد لدى الأشخاص الطبيعيين اختلافات صغيرة وثابتة في أطوال هذه المنطقة. (5-37 تكراراً)، في حين يكون اختلاف الأطوال في الحثل العضلي التوتري ممتداً ليصل إلى (50-2000 تكراراً)، وكلما كان طول التكرار أكبر كان غير مستقر بشكل أشد. هناك بشكل عام (ولكن ليس مطلقاً) علاقة طردية بين طول التكرارات وشدة المظاهر السريرية. (تكون خفيفة مع تكرار 50-99)، والشكل الكلاسيكي (100-1000 تكرار)، وأخير الشكل الولادي (1000-2000 تكرار). الحالات التي يكون تضخيم التكرار صغيراً، قد لا تظهر أي أعراض، وقد يكون تخطيط العضلات الكهربائي سليماً، وكذلك فحص الشبكية بواسطة المصباح الشقي (Slitlamp). ولكن قد يحدث تضخيم أكبر للتكرارات في الحالات المصابة وتظهر الأعراض الأكثر شدة

في النسل، على عكس ذلك قد تتناقص الطفرة الطولية عند انتقالها للنسل، وهذا أكثر شيوعاً إذا كان الانتقال من الأب 10%، وأقل شيوعاً إذا كان الانتقال من الأم 3%.

بالنسبة للأبني المصابة، يكون 50% من أولادها غير مصابين، و 29 مصابين في مرحلة متأخرة من العمر، و 12% يموتون عند الولادة، وأخيراً 9% لديهم نقص تؤثر شديد وإعاقة عقلية منذ الولادة، أما بالنسبة للذكور المصاب فيكون نصف نسله مصاب، والنصف الآخر غير مصاب، ولا تتظاهر أي حالات عند الولادة. يمكن الكشف عن الحمل قبل الأعراض بتحليل الدنا. أما التشخيص قبل الولادي فيتم بتحليل الدنا، تواتر هذه الحالات واحد لكل 7500.

36.16. الاكتئاب الهوسي (الاضطراب الفاعل مزدوج القطب)

:Manic Depression (Bipolar Affective Disorder)

يصيب الاكتئاب الدوري الشديد و/أو الهوسي، واحداً لكل مئة من السكان. الوراثة متعددة العوامل واضحة في التوائم أحادية الزيجوت، بتواؤم مقداره 70% بالمقارنة مع 15% في التوائم ثنائية الزيجوت، وبشبه ذلك 15% في الأقارب من الدرجة الأولى. تتضح الوراثة المتغايرة في هذه الحالات، ولكن لم يحدث اتفاق معين حتى الآن حول هذا الموضوع من دراسات الارتباط في العائلات المصابة.

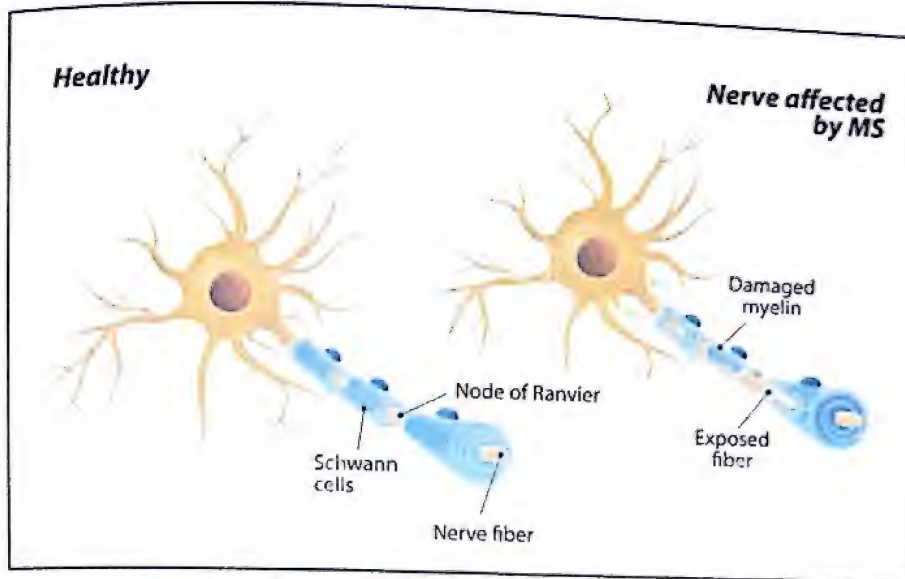
37.16. داء العصبون الحركي (Motor Neuron Disease):

يصيب داء العصبون الحركي واحداً لكل 20.000 من السكان، وينتشر في 10-5% من الحالات (التي تميل أن يكون البدء فيها مبكراً) تكون الوراثة فيها على شكل خلية سائدة جسدية. بالنسبة لداء العصبون الحركي العائلي، فإن 15-20% من الحالات تسببها طفرات في إنزيم فوق أكسيد الدسموتاز 1 - 1 Dismutase Superoxid، وفي هذه العائلات يقترح إجراء الاختبارات قبل ظهور الأعراض.

38.16. التصلب المتعدد (Multiple Sclerosis):

يظهر التصلب المتعدد زيادة التواؤم في التوائم المثلثية (التواؤم في التوائم أحادية الزيجوت 25-30% في مقابل 2-5% في التوائم ثنائية الزيجوت)، وزيادة الخطورة لدى الأقارب من الدرجة الأولى 1-2%، وهذا يدعم الوراثة متعددة العوامل. تظهر تحاليل ثنائي الأشقاء، انحرافاً في زمر التوافق النسيجي الكبرى (MHC)، حيث يشترك في اثنين من النمط الفردي (Haplotypes) نحو 40% من المصابين، و 47% لديهم نمط فردي واحد، ونحو 13% بدون نمط فردي مشترك (بالمقارنة مع شيوع متوقع 25% و 50% و 25%). تظهر تحاليل التوافق خطورة بنسبة مقدراها 36% بالنسبة DQB IB. طبيعة التأثير

البيئي غير واضحة ومن المفترض أنها مسؤولة عن زيادة الشيوع مع زيادة الارتفاع. إذا أصيب قريبان من الدرجة الأولى ازدادت خطورة الرجعة إلى 5% (الشكل 16-18).



(الشكل 16-18): التصلب المتعدد Multiple Sclerosis.

39.16. التحصي الكلوي (المرتبط بالصبغي X-Linked Nephrolithiasis):

يشخص بوجود حصيات بولية، ارتفاع طرح الكالسيوم في البول، نقص الفسفات في المصل. ويختلف من حالة لأخرى. تورث هذه الحالات كخلة متنحية للصبغي X، وتسببها مجموعة مختلفة من الطفرات في سبيل الكلور البولي (Renal chloride channel).

40.16. التخفيق (النوم الانتيابي: Narcolepsy):

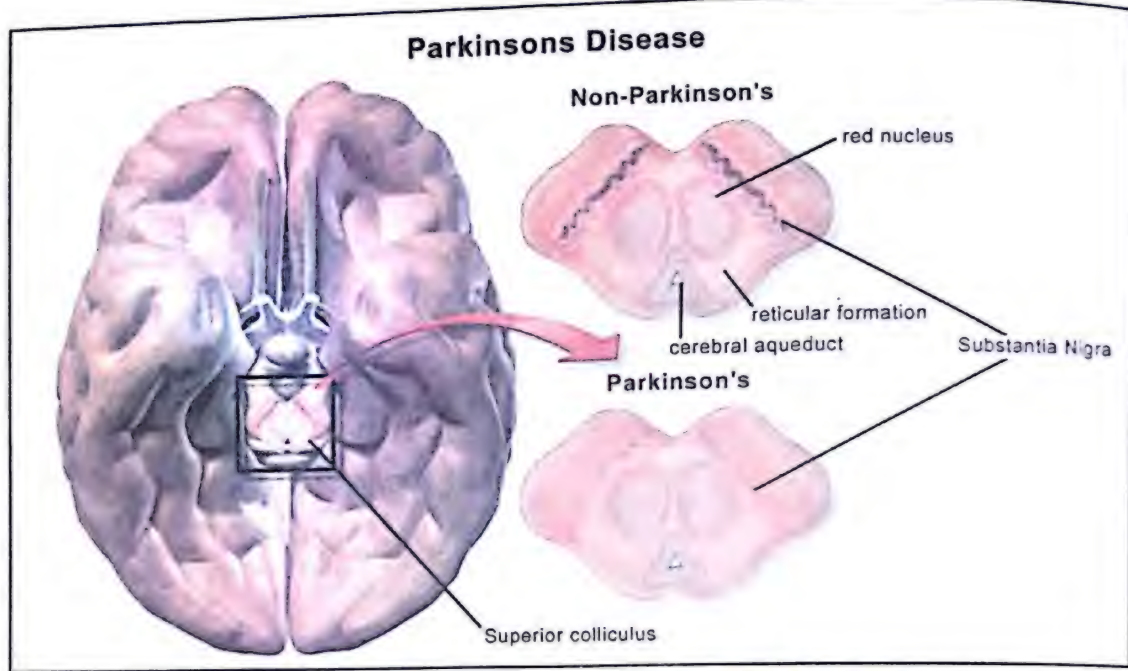
يصيب التخفيق واحداً من كل 2000 فرد، وخطورة إصابة الأقارب من الدرجة الأولى تتراوح بين 10-50% من الواضح وجود ترافق شديد مع الزمرة النسيجية (HLA DR2) إذ توجد في 90-95% من المصابين (بالمقارنة مع 20% من عموم السكان - الخطورة النسبية 250-350%).

41.16. داء باركنسون (Parkinson's Disease):

إن الآفة المميزة لداء باركنسون هي استنزاف (Depletion) عصبونات الدوبامين في المادة السوداء في الدماغ. تتناقص هذه الخلايا في الأفراد الأسوياء مع التقدم في العمر، وتظهر الأعراض السريرية إذا وصل هذا النقص إلى 30% من المستوى الطبيعي. يصل انتشار داء باركنسون إلى واحد في المئة حين الوصول إلى 50 سنة من العمر، ويرتفع إلى 2-3% حين الوصول إلى 85 سنة من العمر. بين هؤلاء

المرضى يوجد زيادة ممن يستقلبون الدبريسكون (Deprisquine) ببطء مما يوحي بالاستعداد الفردي نحو استقلاب السموم البيئية (الشكل 16-19).

بالنسبة للحالة الفردانية، ربما تزداد الخطورة قليلاً بالنسبة للأقارب، أو قد تتأثر عن الخطورة في عموم السكان، ولكن إذا أصيب اثنان من الأقرباء من الدرجة الأولى أو في حال كان بدء المرض مبكراً، تكون نسبة الخطورة 30% بالنسبة للأقرباء من الدرجة الأولى عند وصولهم سن 75 سنة.



(الشكل 16-19): داء باركنسون Parkinson's disease.

42.16. بيلة الفينيل كيتون (Phenylketonuria):

يتم التشخيص بارتفاع في نسبة الفينيل ألانين في الدم والبول. يكون التطور سويًا وكذلك معدل البقاء، إذا بقي الطفل على غذاء منخفض المحتوى من الفينيل ألانين مع إضافة الثيروزين، لكن تحدث الإعاقة العقلية إذا لم يطبق هذا العلاج. هناك خطورة لحدوث الإعاقة العقلية، وكذلك إتيان نسل مشوه للإناث المعالجات، إلا إذا طبق هذا العلاج عليهن مرة أخرى قبل الحمل، حتى يحافظ على مستوى الفينيل ألانين في دم الحامل في مستوى 120 - 480 ميلي مول/ليتر.

تورث كخلة متنحية جسمية بسبب مجموعة متنوعة من الطفرات في جين الفينيل ألانين هيدروكسيلاز (PAH) تظهر نماذج الطفرات السائدة اختلافات عرقية (مثلاً R408W تمثل ثلثي الطفرات في أوروبا الشرقية، إذا ما قرنت بـ 24% في إسكتلندا، وتمثل الطفرة التفسيرية Splicing mutations في الإنترون 10. نحو 40% من الطفرات في المجتمع التركي. يمكن الكشف عن الحمل في العائلات المصابة وكذلك التشخيص قبل الولادة بتحليل الدنا. تسمية التواتر واحد إلى 10000 في أوروبا (ما عدا

إيرلندا إذ تكون واحد لكل 4000. وتركيا واحد لكل 3000). هذه الحالة نادرة في الكاريبيين الأفريقيين، والإشكناز، والهنود.

43.16. مقدمة الارتعاج/ الارتعاج (فرط ضغط الدم المحرض بالحمل) :Pre-Eclampsia/Eclampsia (Pregnancy-Induced Hypertension)

تحدث مقدمة الارتعاج في 2-3% من حالات الحمل (4-6% من الحمل الأول)، ويكون ضغط الدم الانبساطي أعلى من 90 ملم زئبقياً، مع وجود بيلة بروتينية أكثر من 0.25 غرام/ل، في قياسين متفرقين أو أكثر، بعد الأسبوع 26 من الحمل، في سيدة كان الضغط الشرياني لديها قبل وبعد ذلك في الحدود السوية. دعمت الدراسات العائلية وجود استعداد وراثي، مع زيادة خطورة مقدارها 4-5 أضعاف في الأقارب من الدرجة الأولى.

44.16. الصدفية (Psoriasis):

تصيب الصدفية 1-2% من السكان، وتتصف بارتفاع التوائم بين توأمي البليضة (70% توأم في التوائم أحادية الزيجوت، في مقابل 23% في التوائم ثنائية الزيجوت)، كما توجد زيادة خطورة لدى الأقارب من الدرجة الأولى. في حال وجود أحد الوالدين فقط مصاب تكون الخطورة بالنسبة للطفل 25% (ترتفع نسبة الخطورة إلى 60-75% إذا كان الوالدان مصابين). أما بالنسبة للوالدين الطبيعيين، ولديهم طفل واحد مصاب، فتكون الخطورة بالنسبة للأشقاء 17% لقد أوضحت تحاليل التوافق خطورة نسبية بمقدار 43% بالنسبة لحاملي الزمر DR7 وفي بعض العائلات وُجد ارتباط مع واسمات الصبغي 17 (الشكل 16-20).



(الشكل 16-20): الصدفية Psoriasis.

45.16. التهاب الشبكية الصباغي (Retinitis Pigmentosa):

يشخص بفقد متروك للرؤية، مع وجود تراكيمات صباغية في الشبكية، تشبه الكريات العظمية (Bone corpuscle)، تفقد الرؤية الليلية باكراً، ويحدث إحصار نفقي (Tunnel vision)، وفي مرحلة متأخرة تفقد حدة الرؤية المركزية، ويختلف ترقى المرض داخل العائلة، وبين العائلات الأخرى (الشكل 16-21).

تكون الوراثة متغايرة، مع خطة سائدة جسمية (15%) بسبب طفرات في جين الرودبسين في بعض العائلات، وفي البريفيرين (Peripherin) في بعضها الآخر)، وتكون الخلة متتحية جسمية (في 70%)، وأخيراً تكون خلة مرتبطة بالصبغي X (في 10%)، ويكون التردد في كل هذه الأنواع نحو واحد لكل 3000-5000 يكون التمييز بين هذه الأنماط صعباً من الناحية السريرية وخاصة في غياب أفراد مصابين في نفس العائلة حتى تحدد نمط الوراثة، وفي هذه الحالة تقدر الخطورة التخيرية (طريق الخبرة العملية). على هذا الأساس، تكون الخطورة بالنسبة لطفل أحد الوالدين المصاب، وبدون قصة عائلية، هي واحد لكل ثمانية. أما العائلات التي لديها وراثة متتحية مرتبطة بالصبغي X، فيمكن التعرف على الإناث حوامل الخلة باستخدام الفحوص العينية وكذلك تحاليل الدنا.



(الشكل 16-21): التهاب الشبكية الصباغي Retinitis Pigmentosa.

46.16. التهاب المفاصل الرثياني (Rheumatoid Arthritis):

يصيب التهاب المفاصل الرثياني واحداً بالمئة من السكان، ويظهر زيادة في التوأم في توأمي البيضة (30% في التوائم أحادية الزيجوت، 5% في ثنائية الزيجوت)، وهناك زيادة في نسبة الخطورة 5% بالنسبة للأقارب من الدرجة الأولى.

تظهر تحاليل التوافق خطورة نسبية مقدارها 3-6 مع الزمر DR4، وتظهر سلسلة الدنا DRB نماذج خاصة لتسلسل للأحماض الأمينية عند الموقع 67-74 (LLEQKRAA أو LLEQRRRAA) يكون هذا الجزء من بروتين DRB ملاصقاً للأخدود الرابط للبيتيد، ومن المحتمل أن يأتي في ملاصقة مستقبلية الخلية T، وربما يؤثر ذلك على الاستجابة المناعية المشاهدة في تلك الحالات.

47.16. الفصام (Schizophrenia):

يوجد الكثير من تحت الأنماط السريرية للفصام، التي يصل شيوعها في السكان في الأعمار المختلفة إلى نحو 0.8% بشكل عام. تظهر في هذه الحالات الوراثة متعددة العوامل، بمعدل توأم كلي في التوائم أحادية الزيجوت مقداره 45%، بالمقارنة مع 12-14% في التوائم ثنائية الزيجوت، ومعدل شيوع في الأقارب من الدرجة الأولى نسبته 10-15%، ولكن 3% فقط في الأقارب من الدرجة الثانية. تكون نسبة الخطورة 40% لدى الطفل إذا كان الوالدان مصابين. وتميل الرجعة إلى الاعتماد داخل العائلة على تحت النمط.

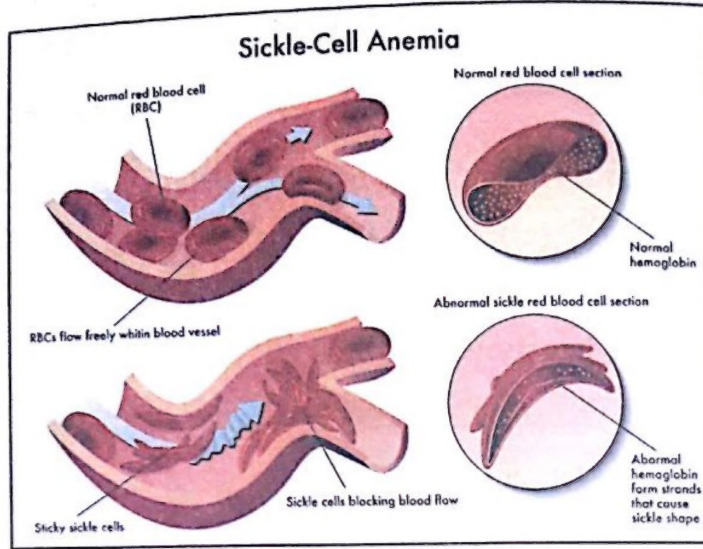
يكون التباير الوراثي ظاهراً، ولا يوجد إجماع في الرأي حتى الآن حول تحاليل الترابط في العائلات المصابة.

48.16. فقر الدم المنجلي (Sickle Cell Disease):

تبين اللطاخة الدموية مظاهر فقر دم، مع تشوه في الكريات الحمراء، وإذا أجري الرحلان الكهربائي للهيموجلوبين يبين الهيموجلوبين S (HDS) بشكل أساسي مع قليل من HbA2، وقد يستمر وجود (5-15%) (HbF)، يحدث فقر دم انحلالي مزمن شديد في الحالات متماثلة الزيجوت. توجد عوارض متكررة من الاحتشاءات، خاصة في الرئة والطحال والعظام. والمصاب أكثر ميلاً للعدوى بالمكورات الرئوية، والتهاب العظام بالسلمونيلة. يكون معدل البقاء قصيراً، رغم ما يقدم من دعم ورعاية. تتحسن النظرة كثيراً لهؤلاء المرضى الذين يرثون في نفس الوقت الهيموجلوبين F الباقي.

يورث كخلة متتحية جسمية، بسبب طفرة نقطية في مكان الحمض الأميني، في الوضع 6 من سلسلة الببتاغلوبين (E6V)، التي ينتج عنها استبدال الجلوتاميك بالفالين. يمكن الكشف عن الحملة بوساطة التحاليل الدموية (اختبار التمنجل (Sickledex test)، وبالرحلان الكهربائي للهيموجلوبين). يمكن

التشخيص قبل الولادي في الشهور الثلاثة الأولى عن الحمل بتحليل الدنا (الكشف المباشر عن الطفرة. أو يمكن التشخيص في الشهور الثلاثة الثانية للحمل عن طريق التحاليل الدموية) (الشكل 16-22).



(الشكل 16-22): فقر الدم المنجلي Sickle Cell Disease.

49.16. عجز القراءة النوعي (Specific Reading Disability):

تتميز هذه الحالة بصعوبة في تعلم القراءة رغم التدريس التقليدي، ومعامل ذكاء طبيعي وفرص ملائمة في البيئة الاجتماعية الثقافية. نسبة من خمسة إلى عشرة في المئة من السكان مصابون بزيادة في التوأم أحادي الزيجوت في التوائم، وزيادة نسبة الخطورة في الأقارب من الدرجة الأولى (نسبة الخطورة في الأشقاء 20% إذا الوالدان غير مصابين وتزداد إلى 30-60% إذا كان أحدهما مصاباً).

50.16. الضمور العضلي الشوكي نمط 1 (داء فيردنغ - هوفمان)

:Spinal Muscular Atrophy Type I (Werdnig-Hoffman Disease)

يشخص بحدوث ضعف عضلي متروك بسبب فقد لخلايا القرن الأمامي (Anterior horn cells)، ويحدث نقص أو فقد المنعكسات الوترية العميقة، وتحرّم (Fasciculation)، ويكون مستوى الكرياتينين كيناز في المصل طبيعياً، أما تخطيط كهربائية العضلات (EMG) فيظهر إزالة التعصيب، وتُبدى الخزعة العضلية مظاهر الضمور. تحدث الوفاة عادة بحلول السنة الثالثة من العمر.

يورث النمط 1 من الضمور العضلي الشوكي كخلة متنحية جسمية، ويحدث بسبب مجموعة متنوعة من الطفرات (خاصة الأخبان في الجين SMA). يمكن الكشف عن الحمل والتشخيص قبل الولادة في داخل العائلة بواسطة تحليل الدنا. التواتر واحد في كل 10 آلاف ولادة، ويكون تواتر الحمل للخلة واحد لكل خمسين). هذا النمط هو الأكثر شيوعاً في حالات الضمور العضلي الشوكي، ولكن هناك أنواع مختلفة أخرى تكون متأخرة البدء.

51.16. الذئبة الحمامية الجهازية (SLE) Systemic Lupus Erythematosus:

قد تكون الذئبة الحمامية الجهازية مجهولة السبب، أو تحدث بتحريض دوائي، أو تكون ثانوية بسبب وراثي في نقص لمكونات مجموعة المتممة. إن النمط مجهول السبب هو الأكثر شيوعاً ويظهر زيادة في معدل التوائم في توأم البيضة. في النمط مجهول السبب تكون الخطورة النسبية 2-5 أضعاف حينما تكون مترافقة مع النمط الفردي النسيجي (HLA A1 B8 DR3). ويعتقد أن هذا يشير إلى عدم توازن الارتباط، مع غياب أليل C4 (C4 null) الذي يذهب إلى حدوث الذئبة الحمامية الجهازية.

أما النوع الممرض بالأدوية فهو أول الأنماط التي وصفت عن تفاعل بين جينين بشريين وعامل بيئي. تشمل الأدوية التي يمكنها تحريض المرض، الأندونيازيد، والهيدريلازين (Hydralazine)، ومركبات الأستلة البطي Slow acetylators. إن زيادة مستويات هذه المركبات في المصل في هؤلاء الأفراد لها تأثير مثبط مباشر على المتممة C4 والمسؤولة عن تصفية أو التخلص من المركبات المناعية في الدوران. وبالرغم من ذلك، فليس كل من يعانون ببطء الأستلة الموضوعين على هذه المعالجات يصابون بالمرض. أما الإشارة الدالة على المكون الوراثي الثاني فقد أتى من ترافق الزمرة النسيجية (HLA DR4) في الأفراد المصابين، مما أوحى أن أليلاً معيناً هو (C4) يكون موضع ارتباط غير متوازن مع DR4. لديه استعداد غير متوقع للتنشيط بهذه الأدوية.

52.16. داء فون ويلبراند (Von Willebrand Disease):

يمكن التشخيص الكمي أو الكيفي (على سبيل المثال، نقص تكس الصفائح باستعمال الريستوسيتين (Ristocetin) أو النمط متعدد القسيمات (Multimer Pattern)، كما يوجد عيب في عامل فون ويلبراند (VWF)، قد يكون المرضى لا عرضيين، أو يحدث لديهم نزوف شديدة بعد الرض. تظهر معظم العائلات وراثية سائدة جسمية، مع مجموعة متغيرة من الطفرات في جين (VWF)، أما العائلات التي تظهر وراثية متنحية جسمية، فعادة ما يكون لديها طفرات خفيفة في (VWF)، تؤدي إلى أعراض وخيمة في الأطفال مغايري الألائل المركب (أو متماثلي الألائل). تكون نسبة التواتر في السكان بالنسبة لمغايري الألائل (VWF) نحو واحد لكل 1000.

المراجع References

- Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al.** (2015) Molecular biology of the cell. Sixth Edition. Garland Science, New York, NJ, USA
- Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF, and Hamosh.** (2015) Genetics in medicine. Eighth Edition, Elsevier, Philadelphia, PA, USA.
- Lewis R. Human Molecular Genetics.** (2015) Concepts and Applications. Eleventh Edition, McGraw-Hill Education, 2 Penn Plaza, New York, NY, USA.
- Snustad P and Simmons MJ.** (2013) Principle of genetics. Sixth Edition, Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ, USA.
- Klug WS, Cummings MR, Spencer CA, Palladino MA.** (2012) Principles of genetics. Tenth Edition. Pearson Education, Inc, San Francisco, CA, USA.
- Reece JB, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky PV, Jackson RB** (2011). Biology. Ninth Edition. Pearson Education Inc., Sansome St., San Francisco, CA, USA.
- Strachan T and Read A.** (2011) Human Molecular Genetics. Fourth Edition Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC, New York NY, USA.
- Passarge E.** (2007) Color Atlas of Genetics. Third Edition. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart, Germany.
- Chen H.** (2006) Atlas of Genetic Diagnosis and Counseling. Humana Press Inc, Totowa, New Jersey, USA.
- Pasternak JJ.** (2005) An Introduction to Human Molecular Genetics. Second Edition, John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, New Jersey, USA.

